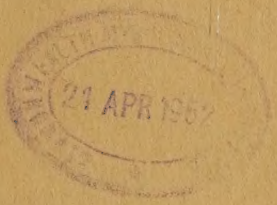
MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE
VOL. VI - NUM. 2



ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
1952

COMITATO DI REDAZIONE

BARTOLO MAYMONE, *presidente*; ANTONIO BIRAGHI, VINCENZO CARRANTE, LUIGI MARIMPIETRI, FRANCESCO SCURTI, *membri*

La responsabilità scientifica di tutto quanto è pubblicato negli *Annali della Sperimentazione Agraria* spetta ai rispettivi autori.

PROPRIETÀ LETTERARIA E ARTISTICA RISERVATA

È vietata la riproduzione di testi e illustrazioni dagli *Annali della Sperimentazione Agraria* senza citarne chiaramente la fonte.

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE
VOL. VI - NUM. 2

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
1952

SOMMARIO

I lavori sono disposti secondo la data di arrivo dei rispettivi dattiloscritti indipendentemente dalla materia in essi trattata.

V. CARRANTE, M. FENICIA e S. DE DONNO: **Esperienze di oleificio eseguite nel 1950.** [Experiments in oil-making executed in 1950] 263

S. DI PRIMA: **Studi e ricerche intorno all'umidità e alla temperatura in Puglia.** [Studies and researches on humidity and temperature in Apulia] 305

V. CARRANTE e V. BÓTTARI: **Miglioramento genetico del limone e ricerca di varietà resistenti al " mal secco ".** [Genetic improvement of the lemon tree and research on varieties resistent to ' mal secco ' disease] 323

P. GELLI: **Determinazione fotometrica del titolo dei concimi fosfatici.** [Photometric determination of P_2O_5 content in phosphate fertilizers] 347

P. GELLI: **Sulla determinazione del titolo dei concimi potassici col metodo " alla fiamma ".** [Determination of K_2O content in potassic fertilizers by the flame photometric method] 359

A. CANOVA: **Marciume delle pere causato da lieviti.** [Rot of pear fruits caused by yeasts] 367

G. PIERI: **Indagini sul comportamento del *Saccharomyces ellipsoideus* nel corso della fermentazione alcoolica di mosti trattati con esteri fosforici.** [Investigations on the behaviour of *Saccharomyces ellipsoideus* in the course of the alcoholic fermentation of musts treated with phosphoric esters] 373

L. GENTILINI e G. MISSIER: **L'alluminio e alcune sue leghe in enologia.** [Aluminum and some of its alloys in oenology] 391

E. BORGIOLI: **Contributo sperimentale allo studio della lattazione artificiale nella specie bovina, provocata mediante trattamenti ormonici.** [An experimental contribution to the artificial lactation of heifers obtained by hormonal treatments] 401

T. DE ROSA: **Indagini sulla composizione dell'aceto di vino.** [Investigations on the composition of wine vinegar] 425

R. Baldoni e A. Canova: **Un metodo per il rapido riconoscimento dei semi di barbabietola infettati da *Phoma betae* (Oud.) Frank.** [A method for the rapid detecting of infection of *Phoma betae* (Oud.) Frank on sugar-beet seeds] 435

T. M. Bettini: **L'ereditabilità della produzione del fiocco nel coniglio Angora.** [Heritability of wool in Angora rabbits] 443

L. Tombesi e S. Fortini: **Intensità fotosintetica e respiratoria, glutatione ridotto, acido ascorbico e attività catalasica in funzione del regime idrico.** [Photosynthetic activity, respiratory intensity, reduced glutathione, ascorbic acid and catalase activity in function of soil water supply] 461

L. Tombesi e M. E. Venezian: **Attività ossidasica, catalasica e carboanidrasica e contenuto in glutatione ossidato/ridotto in relazione alla simbiosi batterica delle Leguminose. Nota II.** [Oxidase, catalase and carboanidrase activities and reduced/oxidated glutathione content in relation to bacterial symbiosis of broad bean. II.] 481

L. Tombesi e M. Tarantola: **Variazioni del contenuto in glutatione ed acido ascorbico, e dell'attività ossidasica e catalasica, durante i processi di fitocicatrizzazione.** [Variation in glutathione and ascorbic acid content, catalase and oxidase activities during the phytocicatrization process] 499

S. Del Gaudio: **Ricerche sulla biologia della trigonella.** [Researches on the biology of the fenugreek] 507

F. Scaramuzzi: **Le basi istogenetiche dell'innesto "ad occhio". Ricerche sul pesco.** [Researches on the histogenetic process in bud-union of peach trees] 517

STAZIONE AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

V. Carrante, M. Fenicia e S. De Donno

ESPERIENZE DI OLEIFICIO ESEGUITE NEL 1950

I. — Premessa

Dopo un lungo periodo d'interruzione, determinato da cause belliche, è stata ripresa, in coincidenza con il risveglio di ordine meccanico nel campo della elaiotecnia, l'attività sperimentale dell'oleificio di questa Stazione agraria, nella campagna olearia 1950-51.

Ai vecchi e complessi aspetti della estrazione dell'olio dalle olive con i sistemi a pressione, ed anzi con superpressione, è venuta a contrapporsi, nel campo delle costruzioni meccaniche, l'apparecchiatura di estrazione dell'olio — senza macine nè pressioni — dalle paste di olive, opportunamente snocciolate e preparate, sottoposte a determinati movimenti di rotazione, utilizzando le forze di tensione superficiale che si svolgono nei mosti oleosi. Non si tratta di principî interamente nuovi che vengono ad essere applicati — chè tentativi del genere si sono avuti nel passato senza concreto successo — ma di nuovi apparecchi e dispositivi attestanti indubbi miglioramenti rispetto al periodo antebellico, dovuti all'incessante spirito d'evoluzione e di rinnovazione operante nei tecnici e nelle industrie. Nè l'azione di miglioramento della meccanica elaiotecnica si limita a questo settore nè a questo principio, onde altre novità saranno realizzate, forse fra non molto, nel campo della modalità delle pressioni, ma si estendono al campo della centrifugazione dei mosti oleosi in cui la parte costruttiva meccanica si va orientando verso le supercentrifughe ad alimentazione continua.

In tale fervore di progressi e di orientamenti nuovi, questa Stazione ha ritenuto opportuno, per ora, sottoporre ad indagine sperimentale due dispositivi nuovi dei quali uno è rappresentato dall'apparecchiatura Sculco e l'altro dalla supercentrifuga Toniatti; mentre, essendo venuta in possesso di una superpressa delle Officine Elettromeccaniche Pugliesi di Taranto, ha voluto mettere in parallelo la lavorazione dei due sistemi costituiti: 1) dalla superpressa e 2) dal sistema Sculco senza

macina e pressione; mentre 3) ha utilizzato, per quanto possibile, la vecchia attrezzatura delle presse a gabbia.

Di tali esperienze si dà conto nella presente relazione dopo una breve descrizione dei locali e delle macchine costituenti il nostro oleificio sperimentale.

1. — Sala delle vecchie macchine: *A*) Un frantoio a macelli De Blasio, con motore elettrico da 4 C. V., trasmissione a cinghie e a pignone, a due molazze in granito da cm. 120 × 25 di q.li 6,75 l'una, ruotanti alla velocità di 10 giri al primo; vasca con fondo in granito di cm. 170 e orlo in ghisa di cm. 210; *B*) tre presse di cui due De Blasio da otto a una Bux di Bari da nove pollici, a tre colonne, con gabbie di 10 anelli di 50 cm. forati sovrapponibili e rivestiti all'interno da retina metallica; *C*) una pressa da dodici pollici, della Breda, a quattro colonne, gabbia di dieci anelli di 55 cm., sprovvisti di retina interna; *D*) una pompa idraulica a tre corpi con motore da 5,5 C. V. azionante tutte le presse.

2. — Sala con la superpressa delle Officine Elettromeccaniche Pugliesi di Taranto (vedi fig. 1) da 14 pollici, composta di una robusta incastellatura in acciaio elettrosaldato, annesso serbatoio dell'acqua e pompa idraulica, fornita questa di due pistoni, uno per l'alta e uno per la bassa pressione, nonchè di un regolatore idrostatico per l'arresto automatico della pressione al limite richiesto. Motore elettrico da 2,5 C. V., trasmissione a cinghie trapezoidali, pressione di lavoro 400 atm., potenza utile 384,8 tonn., pressione unitaria sul piatto 142 kg./cmq., corsa del pistone cm. 100, diametro dei dischi in ferro cm. 70. Al piatto superiore è applicato un tubo circolare a doccia per il lavaggio della torre. Completano il corredo della pressa, un dosatore a randa livellatrice da cm. 60 con foro interno di cm. 18, due carrelli da cm. 100 con foratina centrale da cm. 11, sezione libera cm. 145 in altezza e 103 in larghezza.

3. — Sala con l'apparecchiatura Sculco: costruita dalla «Société Commerciale d'usinage pour la costruction d'outillage, machines et materiel d'huilerie», Tours (Francia), si compone di tre organi (vedi fig. 2): *A*) vasca lavatrice di cm. 100 × 59 × 92 in lamiera, con valvole di scarico al fondo, divisa in due sezioni da una lamiera mediana verticale attraverso la quale imbocca un elevatore a coclea con passo di cm. 9 che, attraversando, per 260 cm., una tubazione di cm. 12 di diametro, imprime il movimento necessario alla lavatura, sgrondo e trasporto delle olive; queste, lavate e scolate, cadono nella soprastante tramoggia dello snocciolatore. Una speciale saracinesca consente di regolare l'alimentazione dell'elevatore. *B*) Snocciolatore: cilindrico, orizzontale di cm. 200 × 25, montato su cavalletto di cm. 260 × 80 × 100, operante la separazione della polpa dai noccioli. A tal fine le olive dalla tramoggia, cadono nel cilindro a griglia dello snocciolatore dove vengono proiettate, per la rotazione di 500 giri al primo, da due spatole elicoidali disposte lungo l'asse longitudinale contro apposite griglie*, spappolandole e privandole della polpa, la quale fuoriesce dalle griglie cadendo nel sottostante cassone; mentre, i noccioli, accompagnati dal movimento elicoidale delle spatole, vengono espulsi attraverso uno scivolo posto ad una estremità della macchina. Un motore elettrico da 6 C. V. con cinghie e puleggia aziona sia lo snocciolatore che l'elevatore-lavatrice di cui si è detto ad *A*). Una pompa ad ingranaggi da un C. V. a 900 giri

---

* Le griglie sono intercambiabili per la sezione, variabile, delle finestrature (mm. 40 × 4 = 37 × 3 = 10 × 2) secondo la varietà e la maturazione delle olive.

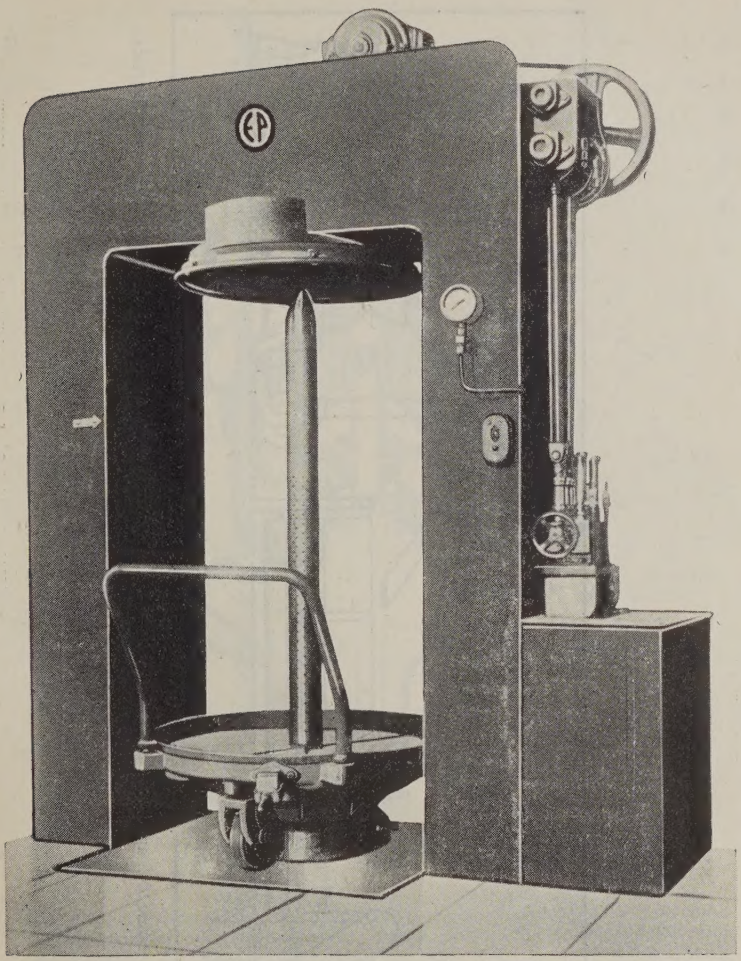


FIG. 1. – Superpressa da 14 pollici delle Officine Elettomeccaniche Pugliesi. – Veduta d'insieme: a destra, cassone della pompa, bielle e trasmissione a cinghie; al centro, carrello con foratina centrale.

al primo, regolata successivamente a 290 giri, opera il trasporto delle paste dal cassone all'estrattore. *C*) L'estrattore, di forma semicilindrica di cm. 400 × × 80 × 120, azionato da motore elettrico da 3,5 C. V., è rivestito al fondo e ai lati da finissima rete (900 fori per cmq.) di acciaio inossidabile. Esso riceve le paste snocciolate e le sottopone ad un lento e continuo movimento di rimescolamento a mezzo di 4 palette metalliche guarnite di gomma, fissate secondo l'asse longitudinale, che sfiorano la retina metallica.

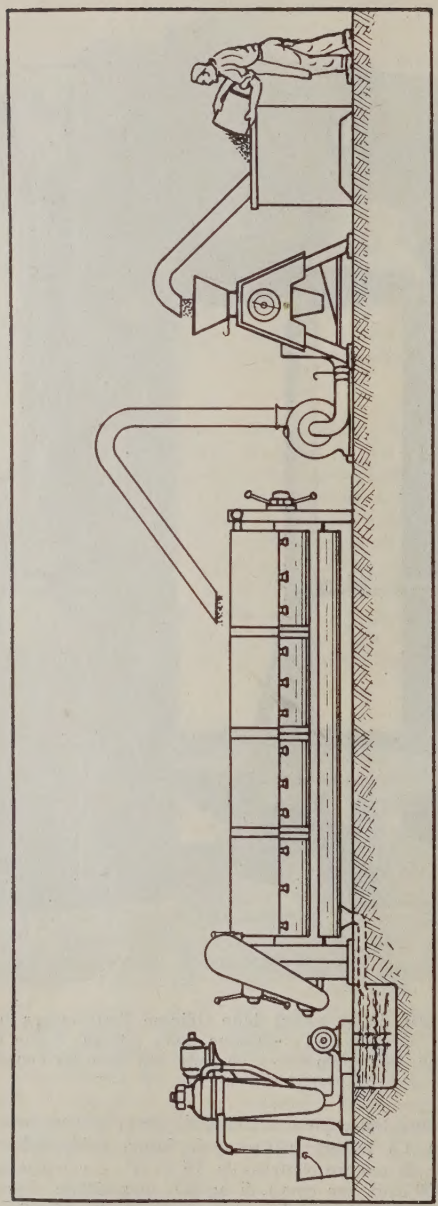


FIG. 2. – Veduta d'insieme dell'apparecchiatura Sculco. – Da destra a sinistra: a) lavatrice, b) snocciolatrice, c) elevatore della pasta, d) estrattore, e) centrifuga.

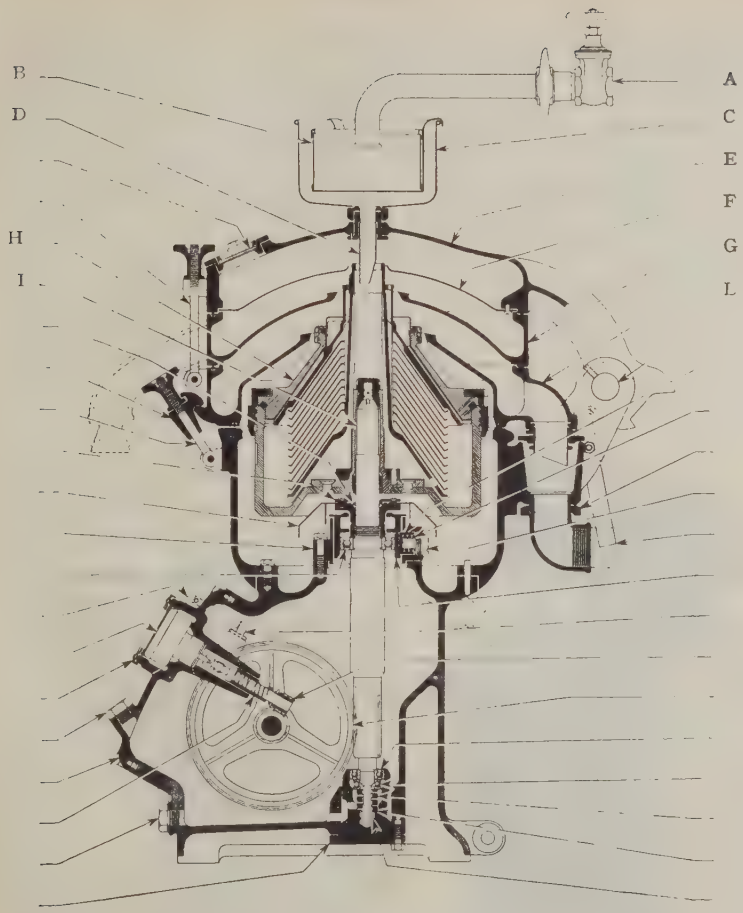


Fig. 3. – Separatore centrifugo «Alfa» De Laval: A) gruppo d'alimentazione; B) filtro; C) coppa d'alimentazione; D) tubo d'alimentazione; E) copertura di troppo pieno; F) copertura dell'olio; G) copertura dell'acqua; H) tamburo del separatore; I) albero del tamburo; L) scarico dell'olio.

L'olio-mosto che durante l'estrazione va lentamente sgocciolando, si raccoglie nella vasca sottostante e viene avviato alla centrifugazione attraverso adatte canalizzazioni; le paste esauste vengono scaricate automaticamente in vasche a carrello, capovolgendo il semicilindro con apposita manovella.

Le fotografie annesse chiariscono la descrizione delle parti dell'apparecchiatura Sculco e della superpressa.

Come si comprende, il sistema Sculco non opera per pressione ma per separazione del mosto delle paste snocciolate, utilizzando le forze di tensione superficiale.

È noto che prove di estrazione con sistemi analoghi erano state già fatte dallo spagnolo Acapulco, dal Quintanilla e dall'Acquarone, senza pervenire a realizzazioni che si fossero diffuse nella pratica.

Come si sa, alla superficie dei liquidi si esplicano le forze di adesione e coesione tendenti ad impedire il distacco delle molecole, venendosi a formare un rivestimento elastico o meglio una tensione superficiale. Una forza che è in antitesi con la tensione superficiale è la forza di gravità, per cui, nella pasta di olive le varie parti che la costituiscono cercano, per forza di gravità, di dividersi. In questo gioco di forze, gli elementi con minore tensione superficiale saranno quelli che più facilmente si divideranno e sgoccioleranno. Nella pasta di olive è l'olio che, con minore tensione superficiale (T = 35,40 a contatto con l'aria ed a 20° C.) si separa agevolmente dal resto della massa.

Nell'estrattore Sculco, un semplice e lento rimescolamento e conseguente sfregamento della massa sulle retine, potenzia tutte le forze sopradette e fa in modo che l'olio si liberi e, andando alle parti periferiche della massa pastosa, venga sottoposto alla separazione e allo sgocciolamento mentre le parti solide vengono trattenute dalle retine e l'acqua, con tensione superficiale più elevata (T = 72,53 a contatto con l'aria ed a 20° C.), rimanga in gran parte trattenuta nella pasta.

Fig. 4. – Supercentrifuga Toniatti, tipo separatore, grandezza III, velocità 16.000 giri al minuto.

È questa la ragione per cui i mosti avuti col sistema Sculco risultano, specie nelle prime ore di estrazione, molto oleosi e le paste esauste rimangono molto ricche di umidità.

4. — Centrifughe: *A*) Separatore centrifugo De Laval (vedi fig. 3) tipo F L 8 U R con 50 dischi stratificatori e tamburo con velocità, in funzione, di 6000 giri al primo; motore elettrico da 2,25 C. V. - *B*) Supercentrifuga Toniatti, grandezza III, del tipo separatore per olio d'oliva con motore elettrico da 3 C. V. (vedi figg. 4, 5 e 6). È costituita essenzialmente da un apparato di copertura; un rotore di acciaio al cromo molibdeno stagnato, dotato, in funzione, di velocità di 16.000 giri al primo; un supporto superiore a doppia sospensione montato su cuscinetti a sfere portante l'albero; un supporto inferiore, completo di gruppo per l'alimentazione, costruito in bronzo; un tenditore a regolazione automatica; una puleggia centrifuga per la messa a regime automatico, graduale e progressivo; bacinelle di raccolta a coppa di chiusura in lega di duralluminio.

L'alta velocità del rotore è riferita sulla parte centrale, dovendosi considerare velocità periferica una più modesta. Si raggiunge tuttavia un notevole risultato di separazione, poichè l'effetto della forza centrifuga aumenta — come è noto — secondo il quadrato del numero dei giri.

Nella supercentrifuga Toniatti, l'alimentazione avviene dal basso; il mosto oleoso, per forza centrifuga ed aiutato da apposite alette, si dispone in un sottile strato e sale alla sommità del rotore ove è posto un diaframma circolare intercambiabile per varie densità. Alla periferia di questo diaframma passa l'acqua di vegetazione e dal foro centrale passa l'olio, fuoriuscendo ognuno dei due liquidi dagli appositi boccagli; mentre le parti più pesanti si accumulano sulle pareti interne del rotore. *C*) Filtro rotativo Andreini tipo « Sicilia » con motore elettrico da 0,15 C. V., asincrono trifase. *D*) Sgrossatore centrifugo Toniatti, con motore elettrico da un C. V., è costituito da un paniere in acciaio, ruotante alla velocità di 1800 giri al primo, in cui si compie una precentrifugazione per separare le parti più pesanti, che si addossano sulla parete interna del paniere, mentre il mosto, debordando, fuoriesce dal tubo di scarico. In seguito a modifiche lo scarico dell'olio mosto o delle melme può essere attuato in lavorazione continua, mediante un travasatore centrifugo, regolabile per il pescaggio nell'interno del paniere.

5. — L'olivaio, deposito sanse, quattro vasche da inferno, a coppia comunicanti, completano l'oleificio.

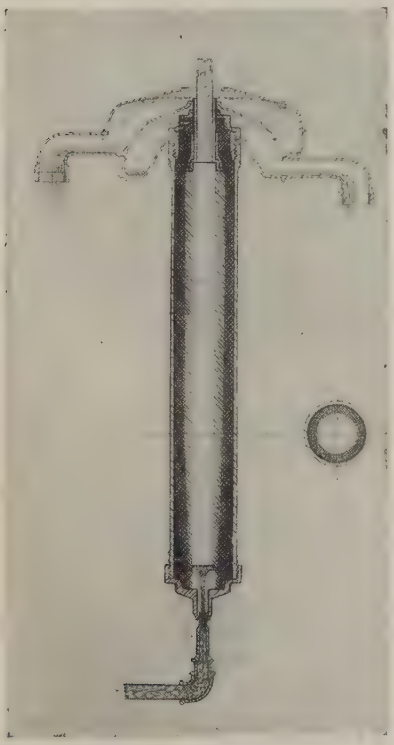


Fig. 5. – Supercentrifuga Toniatti. Rotore tipo separatore.

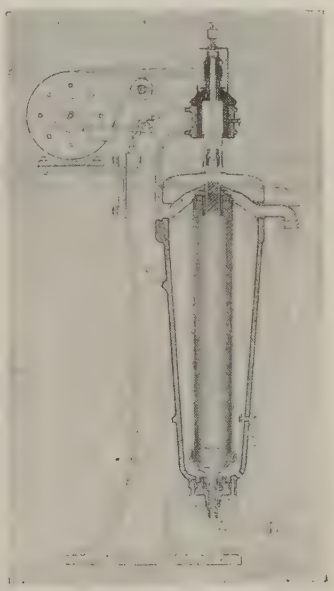


Fig. 6. – Sezione della supercentrifuga Toniatt

II. — Parte sperimentale

1. — Diagrammi di lavorazione e materiale impiegato

Per una più obiettiva valutazione nel confronto fra i due diversi sistemi di lavorazione Sculco e « superpressa », oltre quello delle « presse a gabbia » (per il quale, non essendosi svolto un numero sufficiente di prove, si riferisce solo in via incidentale per i pochi dati raccolti) ci si è avvalsi, e dei dati diretti di oleificio e di quelli di un gran numero di campioni per le diverse fasi di trasformazione del prodotto, analizzati nel laboratorio chimico della Stazione con la diretta collaborazione del dottor Della Gatta e del tecnico Luigi Chieppa.

Le prove sperimentali si basano sul confronto della quantità in olio nelle olive e nelle paste; resa e caratteri organolettici e chimici degli oli ottenuti; grasso nelle sanse e paste esauste; capacità lavorativa e conti economici, mentre nel corso degli esperimenti, sono state inserite prove marginali di adattamento delle macchine e dei diagrammi di lavorazione.

Tutti i valori ottenuti e trascritti negli allegati I, II, III, IV, V e VI si riferiscono ad una sola campagna olearia e precisamente a quella iniziatasi l'8 novembre 1950 e terminata il 3 febbraio 1951, e poichè è necessaria la ripetizione per raggiungere risultati attendibili, si attribuisce a quelli ottenuti un valore di largo orientamento col proponimento di ripetere le esperienze nella prossima annata 1951-52.

Diagrammi «base» di lavorazione

Sculco: Lavatura; snocciolatura delle olive; estrazione del mosto oleoso dalle paste dopo 4 a 6 ore; centrifugazione del mosto; pesatura dei prodotti.

Superpresse: Macina a molazze delle olive per 30' con carico al frantoio di kg. 125; 2 h. di pressione (65' a 400 atm.); centrifugazione del mosto; pesatura dei prodotti.

Presse a gabbia: Prima macina a molazze per 30' con carico al frantoio di kg. 100; prima pressione 50' (30' a 150 atm.); carico alla gabbia 100 kg.; rimacina; seconda pressione 90' (60' a 250 atm.); carico alla gabbia di seconda pressione 200 kg.; centrifugazione del mosto; pesatura dei prodotti.

Due sono stati i tipi di stoini adoperati per la superpressa, uno in corda di cocco, con intelaiature in pelo animale della Ditta G. Parato di Ceglie; l'altro, della Ditta Cornello di Bari, in fibra speciale pressata e rinforzata con cuciture.

Per il carico, ogni quattro diaframmi è stato interposto un disco di ferro, adoperandone 16 per ogni torre con 60 diaframmi filtranti o stoini.

Per le presse a gabbia sono stati adoperati diaframmi di cocco, internamente provvisti di rete metalliche, detti «a tappeto», della Ditta Trisciuzzi di Bari del ø di cm. 50.

Nel carico della torre di seconda pressione i suddetti stoini sono stati alternati ogni quattro con diaframmi in ferro di mm. 3 di spessore.

2. — Olive

Le olive impiegate nella sperimentazione sono state q.li 324,45 di cui q.li 39,42 della varietà « Ogliarola di Bitonto », q.li 154,46 di « Coratina », q.li 16,00 di « Cima di Mola », e q.li 114,57 di olive « miste » provenienti in parte dal campo sperimentale della Stazione, e in parte da acquisti fatti in diversi oliveti della provincia. La qualità è risultata in generale buona per scarsi attacchi di *Dacus*, meno quella delle ultime partite, scadente, perchè raccolte da terra, in parte verminate o sovramature. Le olive lavorate dal 15 al 22 dicembre 1950 della varietà « Coratina » sono risultate acerbe, dando disturbi nella lavorazione, perchè la pasta sotto pressione schizzava e nella Sculco stentava a rendere il mosto che peraltro ha reso olio eccellente.

Sono state lavorate inoltre piccole partite di olive di cascola come risulta negli allegati.

L'acqua impiegata durante la lavorazione è stata quella dell'Acquedotto Pugliese; la temperatura dell'ambiente ha oscillato da 14° a 18° con prevalenza intorno a 15° C.

3. — Esame di laboratorio: contenuto in olio e umidità nelle olive e nelle paste

Avendo lavorato, durante gli esperimenti con i due sistemi (oltre quello a gabbia), partite di olive diverse per varietà, provenienza e maturazione, di differente valore sono i risultati ottenuti in laboratorio per ciò che riguarda il contenuto in olio nelle olive, per cui trascriviamo le medie percentuali che, per maggiore attendibilità, sono state elaborate con medie ponderali, come nella seguente tabella I:

Tabella I

Contenuto in olio campioni olive in laboratorio.

Varietà	Provenienza	Sculco %	Superpressa %	Gabbia %
Olive di cascola	S. A. S. Bari	24,60	—	—
«Cima di Mola»	Torre a Mare	22,10	—	—
Miste	S. A. S. Bari	23,02	24,01	23,03
	Bitetto	21,05	21,05	—
	Grumo	24,33	—	—
Media ponderale miste per sistema		22,86	23,64	23,03
Media ponderale miste		23,04 %		
«Coratina»	S. A. S. Bari	20,90	21,17	—
	Barletta	20,65	20,65	20,65
	Corato	23,24	24,36	24,05
	Andria	25,45	25,45	25,45
	Casamassima	—	—	20,50
Media ponderale «Coratina» per sistema		22,62	22,21	22,26
Media ponderale «Coratina»		22,59 %		
«Ogliarola» di Bitonto o «Paesana»	Bari	22,10	21,89	—
	Casamassima	23,00	—	23,00
Media ponderale «Ogliarola» per sistema		22,49	21,89	23,00
Media ponderale «Ogliarola»		22,47 %		
Media ponderale per sistema		22,72	22,92	22,56
Media ponderale generale		22,76 %		

Non tenendo conto delle olive « miste » per la non uniformità delle partite e delle « cascole », per perdita di umidità durante la permanenza sul terreno delle olive, si nota che le « Coratine » accusano un contenuto in olio variabile a seconda della provenienza e grado di maturazione (es. 20,65 « Coratine » di Barletta - 25,00 « Coratine » di Corato), per cui la media per varietà non risulta suscettibile di alcuna generalizzazione.

Del pari le « Paesane » hanno accusato una oscillazione dal 20,75 (« Paesane » di Bari) al 23,00 (« Paesane » di Casamassima) confermando quanto innanzi è stato detto.

Per stabilire le variazioni delle umidità verificatesi durante le diverse fasi della lavorazione, si è provveduto alla determinazione delle percentuali di umidità iniziali nelle olive. Da tali percentuali (vedi ...

e 6) si è formata la media ponderale per le olive lavorate con ciascun sistema (superpressa - Sculco - gabbia) secondo risulta dalla seguente tabella II:

Tabella II

Sculco	45,71 %
Superpressa	48,10 %
Gabbia	46,16 %
Media generale ponderale . . .	46,37 %

Come si rileva dai dati, non sono state constatate differente apprezzabili nelle partite lavorate con i tre sistemi e tuttavia per quelle della superpressa il contenuto in umidità risulta più elevato (48,10), rispetto a quello della Sculco (45,71), non per effetto di una selezione ma per il gioco delle masse di partite di olive così come sono giunte in frantoio. Le variazioni innanzi riportate hanno avuto una certa influenza nelle fasi della lavorazione come si rileva in seguito.

Il contenuto in olio e umidità nelle paste risulta eguale a quello delle olive per le paste da frantoio; mentre diverso è per le paste passate allo snocciolatore per la mancanza in queste ultime dei noccioli che trovansi nelle drupe per il 21,46 % e per un certo quantitativo di acqua che, dalla lavatrice, attraverso le olive, viene inevitabilmente trasportato nello snocciolatore incorporandosi nelle paste.

I dati ricavati (vedi allegati 2, 4 e 6) con medie ponderali risultano come segue:

	Olio %	Umidità %
da frantoio: come nelle olive	22,92	48,10
da snocciolatore	27,72	52,44

Per le paste da snocciolatore si è ricavato in laboratorio, per ogni partita di olive, diversa per varietà e provenienza, il contenuto percentuale in olio come risulta dalla tabella III che segue:

Tabella III

Olive di cascola	S. A. S. Bari	29,95	Media	29,95
«Cima di Mola»	Torre a Mare	27,10	»	27,10
Miste	S. A. S. Bari	28,62		
	Bitetto	26,00		
	Grumo	28,85	»	27,87
«Coratina»	Barletta	26,00		
	Andria	28,30		
	S. A. S. Bari	25,57		
	Corato	27,94	»	27,41
Paesana di Bitonto»	Bari	27,64		
	Casamassima	27,00	»	27,53

I dati riportati accusano due fenomeni di cui uno è conferma di quanto è stato già rilevato, e cioè che in rapporto alle partite di olive giunte nel frantoio è venuta ad eliminarsi o quasi la differenza del contenuto in olio delle varietà; l'altro è che il contenuto in olio delle paste snocciolate risulta aumentato del 5 % circa rispetto alle olive originarie. Questo aumento del 5 % dei grassi corrisponde alla differenza di umidità insita nei noccioli; infatti con una media del 22 % dei noccioli e un contenuto del 18,50 di umidità sempre dei noccioli si ottiene, per quintale, la differenza del 5 % circa. Le oscillazioni in più o meno rispetto a questo dato sono da attribuirsi al gioco della perdita in peso delle olive per sottrazione di terra durante il lavaggio (caso delle olive molto sporche) e del trasporto parziale di acqua dalla coclea per incompleto sgocciolamento oppure per occasionale formazione di piccole sacche di acqua imprigionata fra le spire della coclea e le olive trasportate nella tramoggia.

4. — Rese in olio

Si vuole, in un primo momento, considerare il rendimento delle macchine. A tal fine sono da osservarsi le percentuali di olio estratto rispetto all'olio inizialmente contenuto nelle paste snocciolate o meno a seconda del sistema a cui si riferiscono. Ciò può non interessare il pratico ma è di una certa importanza per chi vede nella meccanica elaiotecnica una lenta evoluzione frutto di pratica e sagge esperienze.

Tabella IV

Confronto del contenuto e delle rese in olio sulle paste espresse in medie ponderali

	Olio contenuto nelle paste %	Olio estratto sulle paste %
Sculco	27,72	22,52
Superpressa . .	22,92	19,21
Gabbia	22,56	17,54

Dai valori ora trascritti sono da ricavarsi dei coefficienti, che potremo chiamare di rendimento delle tre macchine, da esprimersi in % dell'olio estratto su quello inizialmente contenuto sempre sulle sole paste e che assumono i seguenti valori:

Sculco: 81,24 %; superpressa: 83,81 %; presse a gabbia: 77,74 %.

Non tenendo conto delle gabbie, per le ragioni già esposte, fra i due rimanenti sistemi risulta, per la superpressa, un coefficiente di rendimento

maggiore del 2,57 % rispetto alla Sculco; differenza di lieve entità se si pensa che è calcolata su 100 parti di olio iniziale.

Le rese in olio sulle olive rappresentano invece il dato più pratico e di immediata convenienza nel confronto fra i tre sistemi, per cui necessita un quadro completo delle rese suddette ricavate in medie ponderali e divise in due sezioni riguardanti, una i dati di oleificio e l'altra riportando il valore dell'olio contenuto inizialmente al 23 %; ciò per avere, in un primo momento, una visione generale dei dati ottenuti e, in un secondo momento, un più rigido confronto fra i tre sistemi.

I dati ottenuti e ricavati risultano nell'allegato VII.

Come risultato quindi nel confronto dei tre sistemi, per ciò che riguarda le rese in olio sulle olive con contenuto reale in olio, si ha una differenza di kg. 0,970 a favore della superpressa rispetto alla Sculco. Per le gabbie, la suddetta resa assume valori inferiori che non precisiamo, essendo stata la sperimentazione insufficiente per questo sistema. Come già detto questi primi risultati ci dànno una valutazione generica sul confronto in quanto derivati da olive con differente contenuto in olio; riportato questo al dato fisso del 23 %, risulta che la superpressa mantiene il vantaggio sulla Sculco in kg. 0,810.

Questi ultimi dati, di grande importanza, risultano dall'elaborazione dei dati elementari in oleificio, sia con i calcoli delle medie ponderali sul contenuto in olio nelle olive e sulle rese, sia riportando al 23 % il contenuto iniziale dell'olio nelle olive.

Tuttavia ancora una volta è da ripetersi che i risultati ottenuti per la lavorazione frazionata (gabbie) sono da ritenersi incidentali e di scarsa efficacia sperimentale, sia per le poche lavorazioni compiute senza continuità da non darci un indice di carattere conclusivo e generale, sia per il macchinario usato, logoro e di anteguerra che non deve certamente aver risposto, come avrebbe dovuto, dando infatti, come risulterà dallo studio delle sanse, perdite rilevanti di olio. La nostra sperimentazione infatti si basa essenzialmente sul confronto fra la superpressa e la Sculco con macchinari nuovi ed aggiornati ai più audaci tentativi della meccanica elaiotecnica; ma è nostro intento sperimentare, nella prossima campagna olearia, anche le presse a gabbia riportate ad un maggior numero di lavorazione ed alla massima adattabilità meccanica.

La minore resa, nel confronto fra la Sculco e la superpressa, è dovuta al fatto che le ultime particelle di olio, nelle paste Sculco, sono così aderenti o meglio inglobate nella massa, che la differenza di tensione superficiale fra l'acqua e l'olio non provoca lo sgocciolamento, anche perchè, l'acqua è, nelle paste delle ultime ore di estrazione, in forte maggioranza creando degli squilibri da favorire sgocciolamento di acqua

e melma e non di olio. Allo stato attuale delle caratteristiche dell'apparecchiatura, solo la pressione può separare ancora dell'olio mosto se alla massa si mescoli qualcosa che funzioni da drenaggio come diremo in seguito.

È da dire qualcosa intorno alla funzione drenante in rapporto al sistema Sculco. Eliminati i noccioli dalle olive, nella pasta non permane nessun corpo specificatamente drenante e saremmo portati a pensare che in una massa completamente rimescolata non v'è bisogno di drenaggio. A tal fine l'estrattore è stato diviso in quattro scomparti per confrontare contemporaneamente diverse paste. Di una stessa partita di olive una parte è stata macinata al frantoio e una parte snocciolata caricando le singole paste in due scomparti separati. La nostra osservazione ha portato a concludere che l'olio mosto sgocciola con più facilità dalle paste di olive frante. Permanendo infatti tutte le altre condizioni uguali risulta favorevole la funzione drenante anche nelle paste Sculco.

I frammenti dei noccioli, infatti, si interpongono nella massa e ne aumentano la superficie libera su cui si esplica la tensione superficiale e su cui può agire la forza di gravità, permettendo un più agevole sgrondo del mosto.

Ma se ciò è sperimentalmente dimostrato non è, allo stato attuale, praticamente realizzabile, in quanto i frammenti dei noccioli provocano, per un maggior attrito, un logorio rapido e spinto delle retine e la lacerazione di alcune maglie.

5. — Confronto con olive uguali per origine e varietà

Per consentire il raffronto su basi di uniformità tra i due sistemi, superpressa e Sculco, sono stati riuniti nell'allegato VIII i dati ottenuti lavorando olive di uguale origine e varietà e mediando aritmeticamente i risultati, prima per le singole varietà e poi per le varietà tra loro (« Paesana », misto di diverse varietà, e « Coratine »).

Risulta dall'allegato che:

1) l'olio-mosto, in percentuale, è più elevato nella lavorazione con la superpressa (65,60 %), di circa il 10 % rispetto alla Sculco (54,8 %) con oscillazioni del 13 % per le « Paesane », del 12 % per le miste, del 7 % per le « Coratine ». Tale differenza è da attribuirsi al fatto, rilevato in precedenza, della maggiore umidità che resta nelle paste esaurite dall'apparecchiatura Sculco;

2) l'olio estratto risulta superiore per la superpressa (18,56 %) e, precisamente, per le partite omogenee prese in esame, del 0,650 % come media, con oscillazioni di 0,290 % nelle « Paesane », del 0,830 % per le miste e del 0,810 % per le « Coratine », lasciando intravedere una influenza delle varietà e del grado di maturazione delle olive circa il rendimento più alto o più basso dei due sistemi confrontati fra loro. In particolare, l'influenza è minima nel caso dell'oliva « Paesana » dalla quale, come è noto, l'estrazione è più facile per la struttura della polpa e per la più precoce maturazione; l'influenza è più marcata per le olive « Coratine » a polpa più compatta e meno acquosa e a maturazione più tardiva. Le miscele di olive di diversa varietà (miste) ma della stessa provenienza, hanno accusato una differenza ancora più marcata tra i due sistemi per la eterogeneità delle polpe;

3) l'acqua di vegetazione accusa un fenomeno complementare dell'olio estratto, nel senso che, maggiore è la quantità dell'olio estratto, minore è la quantità dell'acqua di vegetazione e viceversa. Comunque, come media generale, l'acqua di vegetazione è maggiore nella superpressa (46,20 %) rispetto alla Sculco (36,54 %);

4) la quantità percentuale di sanse esauste è risultata più elevata nella superpressa (32,27 %) per la presenza di noccioli che mancano nella Sculco (23,92 %). Anche in questo caso tuttavia si risente una influenza della varietà, essendo stata del 33,00 % nella superpressa e 23,00 % nella Sculco per la varietà « Paesana »; del 32,00 e del 24,50 per le olive di diverse varietà o miste, e del 31,80 e del 24,26 per le « Coratine »;

5) i dati di laboratorio non dànno luogo a rilievi per quanto si attiene all'olio nelle olive, poichè le percentuali, riferendosi a campioni della stessa massa di olive lavorate per le due macchine, non hanno nè potevano accusare differenze partita per partita. Si è notata invece la influenza varietale, in quanto rispetto alla media del 22,38 %, si è avuto il 20,75 % per la « Paesana », il 23,24 % per le « miste » e il 23,16 % per le « Coratine », con oscillazioni entro la stessa varietà, per il riflesso della zona di provenienza (ad esempio: le « Coratine » da 20,65 % per quelle di Barletta il 30-XI-1950, hanno dato il 25 % per quelle provenienti da Corato 21-XII-1950);

6) l'olio nella sansa accusa un costante maggiore contenuto per quella proveniente dalla lavorazione Sculco (9,42 %) rispetto a quella della superpressa (8,56), con una differenza di 0,860 %, la quale è dovuta al minore grado di esaurimento che si verifica nella Sculco.

Anche per l'olio nelle sanse si è notata una influenza delle varietà ed infatti la differenza è stata di 0,500 % per le « Paesane », di 1,300 % per le olive « miste » e di 1,780 % per le « Coratine », per effetto sempre della diversa struttura della polpa e del grado di maturazione. Non occorre soffermarsi ad illustrare che tali percentuali, se riferite ai quintali di olive lavorate, si riducono alla quinta parte circa, ammettendo che occorrono in media da 4 a 5 q.li di olive per avere 100 kg. di olio;

7) l'umidità nelle olive non presenta fatti di rilievo fra i due sistemi per i motivi già detti a proposito dell'olio nelle olive. Essa è risultata del 46,79 % come media, con differenze variabili dal 47,20 % per le « Paesane », del 46,58 % per le « miste » e del 46,60 % per le « Coratine »;

8) viceversa l'umidità nelle sanse accusa notevoli distacchi, essendo costantemente più secche le sanse della superpressa. In particolare si è avuto come media il 22,46 % nella superpressa e il 63,75 % nella Sculco, con variazioni al solito dovute alla varietà (20,15 % contro 63,50 % nella « Paesana »; 23,71 % contro 64,20 % nelle « miste » e 24,65 % contro 65,00 % nelle « Coratine »). Il fatto è dovuto, come già è stato rilevato in precedenza, alla tensione superficiale più elevata che presenta l'acqua rispetto all'olio per cui, quando questo è quasi totalmente estratto, molta parte dell'acqua è ancora nelle paste. È uno degli aspetti meno favorevoli dell'apparecchiatura Sculco, che però può essere eliminato con la integrazione della pressione, di cui si dirà in seguito;

9) infine l'esame dell'acidità degli olî (espressa in acido oleico) mostra un evidente svantaggio per la superpressa, e ciò è dovuto, a nostro parere, alla influenza negativa degli stoini, che apportano da una lavorazione a quella successiva, residui di acidità insopprimibili mentre la Sculco, operante con la rete di acciaio inossidabile, evita totalmente questo punto debole, che interessa tanto le presse quanto le superpresse.

I dati ottenuti confermano infatti che contro una acidità media del 0,52 % nella Sculco, si è avuto l'1,05 % nella superpressa, con le seguenti oscillazioni: 0,63 % contro 0,51 % per la « Paesana »; 1,22 % contro 0,76 % per le « miste »; 1,31 % contro 0,31 % per le « Coratine ». La differenza è tale che può declassare una partita di olio dagli extra ai fini, pur avendo impiegato, nella lavorazione, partite di olive uguali, con la sola variante del sistema di estrazione. Il vantaggio che offre la lavorazione con la Sculco è sotto questo profilo decisivo sia dal punto di vista economico che da quello tecnico per la valorizzazione degli olî d'oliva.

6. — Caratteristiche organolettiche e chimiche degli olî

Basandoci su nostre osservazioni dirette e su quelle dei migliori degustatori d'olio della zona, risulta indiscutibile che l'olio della Sculco presenta netti vantaggi sull'olio di superpressa e su quello di pressa a gabbia, anche di sola prima pressione, specificatamente per il sapore di fruttato e aromi, potenziando quindi questa caratteristica che porta i nostri olî pugliesi fra i migliori piazzati sui mercati nazionali.

Si è già visto che nelle partite omogenee la differenza di acidità fra olî Sculco e olî di superpressa, oscilla dal 0,53 % all'1 %, tale differenza si trova confermata nelle partite di olive, anche non omogenee, lavorate con i due sistemi, ciò che fa ritenere trattarsi di una influenza di carattere generale per l'azione negativa degli stoini negli olî estratti con pressione.

Certamente anche l'assenza dei noccioli, nella lavorazione Sculco, influisce su una minore acidità e sul complesso della qualità degli olî, in quanto con i noccioli franti a macello viene con essi eliminato un quantitativo di altre sostanze ad alto potenziale biochimico, utile per ciò che interessa la germinazione dei semi, ma sfavorevole alla qualità dell'olio.

Si è voluto ancora vedere, su dei campioni conservati appositamente, l'influenza del tempo sull'acidità degli olî ottenuti con i due sistemi. I dati sono riportati nella tabella V che segue:

Tabella V

Influenza di tempo sull'acidità degli olî

Tempo	Sistemi	
	Sculco %	Superpressa %
All'estrazione	0,57	1,38
Dopo due mesi	0,65	1,53
Dopo quattro mesi	0,66	1,54

L'acidità quindi è variata nel tempo di poca entità, ma è da notare che dall'estrazione al secondo mese, per la Sculco abbiamo una differenza del 0,08 %, mentre per la superpressa tale differenza sale al 0,15 % il che potrebbe significare, limitatamente alle nostre prove, che l'acidità degli olî Sculco si mantiene relativamente più costante nel tempo che non quella degli olî di superpressa, per l'assenza dei principî bioidrolizzanti che si liberano dalla mandorla delle olive con la frangitura e che inoltre giocano favorevolmente i principî antiacidi biologici che si immettono dall'epicarpio della drupa nell'olio in maggiore quantità, durante la lavorazione con il sistema Sculco.

All'osservazione diretta poi risulta che gli olî di ambedue i sistemi si sono mantenuti piuttosto torbidi anche dopo qualche tempo per l'aria emulsionata; torbidezza che si elimina completamente con una adatta filtrazione; risultandone olî della più perfetta limpidezza e colore, specificatamente per gli olî della Sculco.

7. — Possibilità d'integrare il sistema ad estrazione con tensione superficiale con quello a pressione

Dall'esame che fin'ora è stato fatto fra le presse e la Sculco si è visto che vi sono elementi di vantaggio e di svantaggio fra i due sistemi, ponendosi il problema di vedere se ed in quanto sia possibile di unire quanto vi è di buono dalle due direttive, per metterlo al servizio della pratica elaiotecnica.

Al fine di studiare la possibilità di migliorare il diagramma di lavorazione tra le presse e la Sculco o tra questa e quelle, integrando appunto l'estrazione per tensione superficiale con la pressione sotto torchio, si sono ricavati i dati quantitativi di sgocciolamento in olio mosto corrispondenti all'olio separato per centrifugazione nelle diverse ore di estrazione come da tabella VI che segue per trarne elementi di primo esame:

Tabella VI

Dati quantitativi olio mosto ed olio per le diverse ore di estrazione

Ore di estrazione	Olio su 100 parti di			Olio mosto su 100 di mosto
	Olio mosto	Olive	Olio	
1ª h.	34,71	4,70	24	20
2ª h.	40,10	7,90	44	33
3ª h.	27,97	4,40	22	24
4ª h.	12,16	0,80	6	13
5ª h.	11,76	0,50	4	10

Dai dati riportati risulta: 1) che come è stato già detto, i mosti delle prime ore di estrazione sono molto ricchi di olio specie per la seconda ora scendendo rapidamente da 40,10 a 27,97 nella terza ora e gradatamente sino ad 11,76 nella quinta ora. La seconda ora quindi rappresenta il dato rilevante di ricchezze in olio degli olî-mosti; 2) che la resa in olio, sia nelle olive che sul totale dell'olio estratto presenta lo stesso rilievo per la seconda h. ma, a differenza della prima, la caduta improvvisa si ha non nella terza ma nella quarta ora; 3) che l'olio mosto sgocciolato presenta sempre il massimo alla seconda ora, notando tuttavia che quello

della terza ora è molto più ricco di quello della quarta ora, non reggendo il medesimo confronto nella proporzione fra terza e quarta ora per l'olio-mosto sgocciolato.

I dati hanno dimostrato che in conclusione, da un punto di vista economico e di sfruttamento dell'impianto, conviene fermarsi alla terza ora di estrazione, dato che nella quarta e quinta si ricavano frazioni di olio (1,30 % rispetto alle olive), sicchè appare conveniente allo stato attuale della macchina Sculco (che ci risulta sarà modificata) di estrarre tali ultime frazioni attraverso la pressione.

Accertato che la curva di rendimento dell'estrattore decresce alla 3ª ora in cui conviene fermarsi, si è presa in esame la seconda parte del problema per stabilire con quale modalità conviene estrarre la rimanente qualità (1,30 %) dell'olio dalle olive*.

A tale fine sono state eseguite nell'oleificio le seguenti prove partendo da due presupposti, di cui uno consiste nell'aggiungere alle paste esauste Sculco un certo quantitativo di sansa esausta di pressione, il che vuol dire introduzione di materiale drenante (frammenti di nocciolo) e anche di materiale legante (bucchiette e sostanze mucillaginose); l'altro, di introdurre sostanze naturali dell'oliva aventi funzioni assorbenti e cioè sfarinato di noccioli il quale esercita, in pari tempo, per quanto meno visibilmente, una funzione drenante dipendente dal grado di finezza dei frammenti.

In terzo tentativo fatto per aggiungere un materiale estraneo all'olivo (paglia di frumento) come materiale drenante e legante nello stesso tempo, non ha dato buoni risultati, come si dirà in seguito.

Le prove impostate sono riportate nell'allegato IX.

I dati indicano che il primo presupposto e cioè quello dell'aggiunta di sansa esausta di pressione in ragione del 20 % assicura uno sgrondo, in gabbia a 250 atm., di olio-mosto, del 5,39 %, che risulta poverissimo di olio: la resa totale è risultata uguale a quella iniziale; l'umidità da 42 % è scesa a 33 %**.

La stessa prova dell'aggiunta del 20 % di sansa di pressione ma con l'impiego della superpressa a 400 atm. ha dato l'estrazione di un ulteriore 10 % di mosto con il 0,30 % di olio: pertanto la resa in olio iniziale del 17,75 % è salita al 18,05 %; l'umidità da 42 % è scesa a 25 %.

---

* In mancanza di estrattori è stato limitato l'esame all'integrazione con la pressione, ma non vi sono, in teoria, ragioni per escludere che il procedimento Sculco possa, ad estrazione avanzata, essere integrato mediante il passaggio delle paste in solvente con la trielina, solfuro di carbonio, ecc.

** L'umidità media delle sanse Sculco è del 63,75 %; l'aggiunta della sansa di pressa ne ha abbassato il livello al 42 %.

La coppia di prove con l'aggiunta del 25 % di sansa di pressione alla sansa Sculco esausta ha dato una resa in mosto (in entrambi i casi si è lavorato con la superpressa a 400 atm.) del 13 % con una resa supplementare di olio del l'1,19-1,37 % portando la resa finale rispettivamente dal 17,53 % e dal 19,90 %, al 19,28 % e al 20,47 %.

Una terza coppia di prove, fatta con l'aggiunta del 20 % di sansa di pressione e successiva estrazione in torre chiusa a 250 atm., ha dato risultati analoghi a quelli della coppia dell'aggiunta del 20 % in cui si è riferito, e cioè resa supplementare di mosto con scarsa quantità di olio, notando che ogni qualvolta si usi la torre chiusa per simili esperimenti la pasta fuoriesce, schizzando dai fori.

La prova con l'aggiunta di paglia di frumento nella misura del 10 % e reimpasto con macelli a molazze, caricando il tutto in presse a gabbie e in presse a torre aperta, ha dato luogo a vari inconvenienti, anzitutto perchè l'impasto non riesce omogeneo e poi perchè, sotto la pressione a gabbia, non dà luogo a sgrondo in quanto i fori si otturano, mentre nella torre aperta (tanto a lieve pressione che con la superpressa), la sansa rimane imprigionata ma la torre si contorce fino alla deformazione degli stoini e dei diagrammi in ferro; in conseguenza non si sono avute rese supplementari nè in mosto, nè in olio.

Infine l'ultima prova inerente all'aggiunta del 50 % di sfarinato di noccioli (ottenuto al lignotero) alla sansa esaurita della Sculco, ha dato i seguenti risultati per pressioni eseguite in piccolo al torchio Mabille: umidità in partenza delle sanse 60,70 %; grassi 9,20 %; dopo l'aggiunta di sfarinato (contenente il 18,15 % di umidità ed il 3,60 % di olio), la pasta miscelata ha presentato il 39,42 % di umidità ed il 6,40 % di olio; infine, dopo la torchiatura, l'umidità è scesa ancora al 29,17 % mentre l'olio è salito al 7,02 % ossia a livelli che sono vicini alle caratteristiche della sansa ordinaria di frantoio.

Dalle prove riportate si deduce che è possibile, dal punto di vista tecnico, di integrare i due principî, e cioè: estrazione dell'olio per azione di tensione superficiale (Sculco) per la durata di 3 ore ottenendo il 90 % circa sul totale dell'olio estratto, ed estrarre il rimanente 10 % di questo a mezzo della pressione sotto torchio previa miscela delle sanse ex-Sculco con il 20-25 % di sansa comune di frantoio.

Dal punto di vista economico i quesiti si pongono nei seguenti termini come plus di spesa, esclusa naturalmente la quota di lavorazione fino ai diagrammi ordinari:

a) per il caso di aggiunta del 25 % di sansa di frantoio (di cui non si calcola il valore perchè successivamente utilizzato per la vendita allo stesso prezzo delle altre sanse), reimpasto, carico della torre, pressione e centrifugazione dei mosti supplementari L. 70 al q.le;

b) il caso dell'aggiunta di paglia di frumento non viene preso in esame dati i risultati tecnici sfavorevoli che si sono ottenuti;

c) il caso dell'aggiunta del 50 % di sfarinato di noccioli (probabilmente non è necessario arrivare a questa percentuale; si opina che sia sufficiente il 25-30 %) comporterebbe una maggiore spesa per la sfarinatura dei noccioli (circa L. 40 per q.le) che si ritiene compensata dal maggior valore che tale sfarinato viene implicitamente ad acquisire per essere incorporato nella sansa. Sicchè la maggiore spesa è uguale a quella del caso precedente di cui alla lettera *a*), e cioè a L. 70 per q.le di olive.

Tenuto conto del ricavo supplementare di olio che si ottiene (oltre il 10 % di inestratto, avendo arrestato, come innanzi detto, l'estrattore alla terza ora) si può ritenere, in base a quello che è possibile concludere dalle prove eseguite, e che meritano tuttavia una più ampia seriazione, che l'aggiunta di sansa o di sfarinato di nocciolo alle sanse ex-Sculco, si presenta economicamente e tecnicamente conveniente.

Tutto ciò indica che l'integrazione dei due sistemi, e cioè quello per estrazione in base alla tensione superficiale e quello basato sulle pressioni, è realizzabile in teoria e in pratica; il problema posto in questi termini è una questione di scelta per l'attrezzatura degli oleifici da parte dei frantoiani, oppure di costruzioni meccaniche da parte delle industrie metallurgiche di apparecchi elaiotecnici.

8. — Centrifugazione dei mosti oleosi

La centrifugazione dei mosti oleosi è parte tanto importante nel diagramma di estrazione degli olî quanto quella della pressione, e sotto certi aspetti risulta ancora più delicata di questa per i riflessi qualitativi degli olî.

Perdite anche sensibili di residui oleosi si possono verificare durante la separazione con centrifughe inadatte o mal regolate o di tipi superati, nè come si vedrà, è da escludere, a parità di condizioni, un possibile peggioramento qualitativo specie nella parte organolettica degli olî che si attiene agli aromi costituenti il « bouquet » proprio della preziosa materia estratta.

Nelle esperienze condotte presso questa Stazione agraria sperimentale è stata rivolta particolare attenzione a questo punto, avendo tra l'altro a disposizione due centrifughe, di cui una del tipo a « dischi stratificatori » o laminatori e l'altra a « rotore cavo », tipi che costituiscono ancora oggi, in materia di costruzione meccanica, due direttrici e due impostazioni tecniche differenti, che trovano, di volta in volta, autorevoli sostenitori e demolitori, senza che peraltro si sia giunti

ad una chiarificazione sufficiente per dare tranquillità, nella scelta, agli operatori elaiotecnici.

La separazione dell'olio dalle acque di vegetazione dipende — come è noto — dal peso specifico e dalla viscosità dei due liquidi fondamentali — olio e acqua — costituenti, unitamente alle sostanze mucillaginose e ai fondami morchiosi, i mosti oleosi; ad essi, con i moderni separatori centrifughi, viene applicata in misura più o meno intensa la forza centrifuga regolata dalla nota formula:

$$F = 4\ \pi^2\ n^2\ r\ m$$

in cui n è = al numero di rivoluzioni al min."; r = al raggio di rotazione ed m = alla massa che a sua volta è uguale al peso diviso per la accelerazione di gravità

Il mosto oleoso, entrato nella centrifuga, e sotto l'azione della forte rotazione, si dispone schematicamente nei seguenti 4 strati:

1) olio
2) liquidi mucillaginosi
3) acqua di vegetazione
4) fondami morchiosi pesanti

di cui il primo si dispone vicino all'asse di rotazione della centrifuga e l'ultimo sulle pareti del tamburo.

Ai fini costruttivi, i separatori centrifughi si distinguono in due tipi oltre quello a tamburo semplice ormai superato; di essi il primo viene detto a tamburo con diaframmi interni (e a questo appartengono le centrifughe Alfa-De Laval, quello Westfalia, quello Lanz, quello Frau, ed altri); il secondo è detto con rotore cavo o tamburo tubulare e ad esso appartengono la supercentrifuga Sharples, la supercentrifuga Toniatti ed altre.

Schematizzando, i due tipi rappresentano — a parte le caratteristiche costruttive specifiche di ogni ditta fabbricante — due concetti sostanzialmente diversi, in quanto, il primo è a tamburo largo e basso e tende a sfruttare al massimo consentito dalle leggi della meccanica la velocità periferica agendo sul fattore (r = raggio) della formula; il secondo — a tamburo stretto e lungo — tende invece a sfruttare al massimo la velocità angolare sul fattore n^2 (= numero al quadrato dei giri) della formula. Inoltre il 1° tipo è provvisto di un numero rilevante di diaframmi conici sovrapposti e forati che prendono nome anche di dischi stratificatori o laminatori del mosto, sui quali questo viene a disporsi, per effetto della velocità, come un sottile velo, onde la separazione dell'olio sia facile, e rapida la fuoriuscita, dell'acqua e dell'olio, in due distinti tubi di scarico. È caratteristica fondamentale la velocità del rotore, che non supera i 5-6000 giri al minuto '.

Il 2° tipo, detto a rotore cavo, è costituito da un « bolo » lungo, cilindrico (vuoto internamente), di piccolo diametro, secondo un rapporto tra l'altezza e la larghezza che la meccanica ha fissato all'incirca in 11-15 volte il raggio; il minore sviluppo del tamburo o bolo è compensato largamente dalla velocità che è circa tripla del tipo a tamburo basso; l'interno del rotore è libero ad eccezione di tre alette verticali che hanno una funzione stabilizzatrice e trascinatrice del liquido. Il dispositivo per la separazione dei liquidi è regolato da due anelli di cui uno è fisso ed è ricavato nell'interno del gambo dell'albero di rotazione; l'altro è mobile e regolabile da una serie di anelli di diversa ampiezza così da potersi adattare, per tentativi, alla densità del mosto in via di centrifugazione, onde evitare al massimo le perdite di sostanze grasse nell'acqua di vegetazione.

Si sostiene da parte di costruttori del tipo a tamburo basso che esso raggiunge: *a*) una grande stabilità, in rapporto al grande diametro del tamburo e la limitata altezza dello stesso; *b*) un minimo logorio dei cuscinetti a sfere su cui poggia l'albero verticale rotante; *c*) un'incidenza minima dei momenti giroscopici orizzontali cui si collegano le vibrazioni dell'apparecchio e i logorî dei materiali componenti la macchina; *d*) un notevole sviluppo della velocità periferica per l'aumentato raggio del tamburo, per cui questo, anche girando a velocità ridotta, sviluppa una forza centrifuga rilevante; *e*) una capacità notevole per i fondami morchiosi che man mano si separano durante la centrifugazione, lo che implica limitate perdite di tempo per lo smontaggio e lavaggio dell'apparecchio, per il minor numero di volte che questa operazione viene ad essere resa necessaria durante la lavorazione.

Viceversa, da parte dei costruttori dei separatori a rotore cavo, si sostiene: *a*) che la velocità periferica maggiore dei tipi a tamburo basso favorisce la rapida usura del materiale; *b*) che essendo la forza centrifuga proporzionale, come si è visto nella formula, al quadrato del numero di giri del rotore, è preferibile aumentare il numero di questi, riducendo il diametro, anzichè aumentare questo riducendo il numero dei giri, dato che la separazione dell'olio dal mosto è in funzione appunto dalla forza centrifuga e maggiore è la velocità angolare (pur essendo minore il raggio) e maggiore sarà la rapidità con cui si ottiene la separazione dei mosti; *c*) che la capacità di raccolta dei fondami morchiosi, nonostante la minore capacità disponibile è maggiore di quella a tamburo, in quanto, più spinta è la deidratazione dei fondami che si raggiunge appunto in virtù del numero dei giri; *d*) che a compensare l'azione disturbatrice dei momenti giroscopici orizzontali vengono applicati dispositivi elastici di sospensione che eliminano tale inconveniente;

e) che la pulizia della macchina è molto più rapida per l'assenza dei numerosi dischi laminatori esistenti nel tipo a tamburo basso; *f)* che superate le difficoltà meccaniche costruttive, le supercentrifughe possono girare a velocità circa triple (16.000 giri) raggiungendo una separazione più perfetta e più rapida dei mosti oleosi.

Per evitare una discussione che potrebbe essere fuori posto in questa sede, si è preferito riportare nelle annesse figg. 3 e 5 il tipo a tamburo basso con dischi e quello a rotore cavo con alette verticali, rispettivamente delle ditte De Laval e Toniatti, che sono state impiegate nelle prove sperimentali di cui si riferisce.

Si precisa ad ogni buon fine che la centrifuga Alfa-De Laval da noi adoperata presenta le seguenti caratteristiche: modello FL8UR; tamburo di diametro interno 30 cm., esterno 34 cm.; dischi tronco conici 50, velocità 6000 giri, motore C. V. 2,25.

La supercentrifuga Toniatti presenta invece le seguenti caratteristiche: separatore per olî grandezza III; diametro interno 12 cm., altezza 77 cm.; velocità 16.000 giri al primo; motore 3 C. V.

Nelle prove condotte presso questa Stazione agraria sperimentale è risultato che impiegando mosti provenienti dalle stesse partite di olive, lavorate tanto con molazze e superpresse, quanto con lo snocciolatore ed estrattore Sculco, si sono ottenuti i seguenti dati con i citati due tipi di separatori centrifughi, come da allegato X.

Prima di commentare i dati, riteniamo necessario di mettere in evidenza che le caratteristiche organolettiche degli olî separati dalla supercentrifuga Toniatti sono risultate nettamente superiori a quelli della De Laval, per avere conservato in pieno gli aromi e il «bouquet» caratteristico degli olî d'oliva, legati probabilmente alla presenza di eugenolo, catechina, pirocatechina, e all'assenza di oleocianina, squalene e olivile. E tali caratteristiche, sono state molto più evidenti nel caso dei mosti provenienti dall'apparecchio Sculco, che, abbiamo già detto, opera senza pressione e in assenza degli olî deteriori delle mandorle dei noccioli. Non appare facile spiegarsi questa differenza negli aromi che vengono ad essere attenuati, o distrutti o perduti nel caso della centrifugazione con la centrifuga De Laval, perchè non sono state condotte indagini specifiche durante la lavorazione; ma si opina che la ossidazione più intensa cui sono sottoposti i mosti nella stratificazione veliforme sugli imbuti laminatori, può determinare la scomposizione dei principî aromatici dell'olio.

Dall'allegato si rileva che i rendimenti orari delle due centrifughe De Laval e Toniatti per mosti Sculco sono differenti a seconda dell'ora di estrazione dei mosti medesimi in quanto man mano che si

procede dall'inizio alla fine dell'estrazione, il mosto aumenta di residuo melmoso e si impoverisce di olio. Così, dai mosti della prima ora, si ottengono 48 kg./ora di olio, da quelli della seconda (come eccezione) 52, della terza 40, della quarta 20, e della quinta 18 kg. con la De Laval a cui corrispondono per la Toniatti, rispettivamente, kg. 44, 49, 35, 17, 15 kg. di olio per ogni ora di lavorazione della centrifuga a seconda dell'ora di estrazione dei mosti Sculco. Da questo punto di vista si nota, fra le due centrifughe, un perfetto parallelismo nelle curve dei rendimenti orari con maggiore rendimento nella De Laval di circa il 10 %. Questi valori assoluti però non sono perfettamente comparabili in quanto i due modelli delle centrifughe non sono tarati, per costruzione, con lo stesso rendimento orario. Essi indicano soltanto che il comportamento delle due macchine è analogo nel senso che rendono di più con mosti oleosi e rendono meno con quelli meno oleosi e più morchiosi, e dànno conferma d'altra parte del fatto già rilevato, secondo il quale, l'estrazione dalla Sculco dovrebbe arrestarsi dalla terza alla quarta ora, salvo ad essere continuato con altro sistema.

Di molto interesse nella capacità di rendimento delle due centrifughe appaiono i dati raccolti sperimentalmente relativi all'intervallo di tempo intercorrente fra una pulizia e l'altra di ogni centrifuga, in conseguenza del fondame accumulato negli apparecchi. Tali dati, espressi in minuti primi, appaiono nell'allegato X e ripetono abbastanza fedelmente la curva oraria di estrazione, con eccezione nella seconda ora; ed infatti si è stati costretti a pulire la De Laval dopo 75′ per mosti della prima ora, dopo 49′ per mosti della seconda, dopo 42′ della terza, dopo 27′ della quarta e dopo 20′ per mosti della quinta ora, ottenendo dalla pulizia un peso di kg. 4 di fondami, aventi l'umidità del 78 % e contenuto in olio del 9,4 %. Per la supercentrifuga Toniatti i dati corrispondenti — prima di essere costretti alla pulizia — sono stati di 98′ per la prima ora di centrifugazione con mosti Sculco, di 63′ per mosti della seconda ora, e rispettivamente 57′ per mosti della terza, 38′ per la quarta e 28′ per la quinta ora, ottenendo a sua volta per ogni pulizia un peso di fondami di 6 kg. contenenti il 32 % di umidità e il 7,55 % di olio.

Ne derivano due rilievi di importanza: il primo è che la supercentrifuga richiede più tempo prima di rendere necessaria la pulizia ma questo elemento potrebbe, ed è, almeno per un 10 % circa, attribuibile alla minore capacità oraria della macchina rispetto alla De Laval; il secondo è che le parti melmose della Toniatti sono più disidradate ed è questo il motivo principale del più lungo intervallo nelle pulizie successive. Si è visto infatti che l'umidità di queste parti melmose è stata

del 32 % nella Toniatti e del 78 % nella De Laval, per cui, lavorando i mosti di eguale composizione si devono impiegare quantitativi notevolmente maggiori nella Toniatti per ottenere lo stesso peso di fondami nella De Laval. Si è già visto che il numero dei giri per minuto primo è di 6000 per la De Laval e 16.000 per la Toniatti e, in rapporto alla maggiore forza centrifuga che sviluppa la Toniatti, la melma viene compressa sulle pareti del bolo e pertanto resta più esaurita rispetto all'acqua, con i vantaggi di cui si è già detto.

A parte il comportamento delle due centrifughe, appare evidente che i mosti Sculco in rapporto alla loro densità richiedono frequenti interruzioni della centrifugazione elevando i costi di lavorazione. Per i mosti delle stesse partite di olive ottenuti con la superpressa le interruzioni sono state infatti necessarie ad intervalli molto lunghi (da 6 a 8 ore), e spesso, nelle nostre centrifugazioni sperimentali, la pulizia è stata effettuata non per raggiunta saturazione di melma nei tamburi, ma per avere centrifugato tutto il mosto della partita sperimentale.

A parte quanto innanzi è stato esposto circa il rendimento e le caratteristiche delle due centrifughe occorre soffermarsi sulle difficoltà che si sono incontrate nella centrifugazione dei mosti Sculco, i quali per effetto della loro ricchezza in particelle melmose non mettono la centrifuga nelle migliori condizioni di rendimento specificatamente per mosti della 4ª e 5ª ora di estrazione Sculco. Si è pensato quindi di inserire nel diagramma di lavorazione Sculco una precentrifugazione onde attuare una separazione grossolana delle parti melmose con l'apposito sgrossatore centrifugo per mosti oleosi costruito dalla ditta Toniatti, già descritto in precedenza.

La produzione oraria 192 kg. di mosto sgrossato per i mosti della prima ora di estrazione e 40 per quelli delle ultime ore potrebbe dirsi soddisfacente e risolutiva se a sua volta il paniere dello sgrossatore non si fosse riempito di tanta melma, dopo un solo quarto d'ora di lavorazione sempre con i mosti, Sculco, da rendere inadatto lo sgrossatore. L'efficacia della sgrossatura risulta evidente dato che i mosti depurati dalle parti più pesanti, portati alle centrifughe, agevolano le operazioni e rendono necessaria la pulizia ad intervalli di tempo doppio.

Sebbene la pulizia del nuovo apparecchio sia operazione di grande facilità e celerità per la struttura meccanica semplice della macchina, tuttavia non si può immaginare un simile diagramma con frequenti interruzioni e con conseguente elevato costo di produzione, ed infatti, la Ditta Toniatti, che ha collaborato nelle ricerche di cui si riferisce, ha modificato il tipo originale di sgrossatore applicandovi un travasatore centrifugo dei residui melmosi che assicura la continuità di lavorazione.

9. — Esame del rendimento delle macchine in base ai grassi e alle umidità nelle sanse e paste

L'esame del rendimento delle macchine estrattrici di olio, impiegate nelle nostre esperienze, è stato finora trattato in rapporto alla quantità di olio assoluto e relativo estratto da un quintale di olive e non si è mancato di portare tale esame in parallelo tra la Sculco e la superpressa, ricavando elementi e considerazioni che di volta in volta sono state precisate. Sembra tuttavia che un esame più sintetico e completo della questione che ci interessa possa essere ottenuto in base al bilancio delle discordanze, e cioè di quella quantità di olio di cui non si trova giustificazione tra la quantità iniziale, accertata nelle olive attraverso il laboratorio, e le quantità estratte più quelle residuate nei sottoprodotti.

Nella tabella VIII, che segue, sono riassunti i dati che consentono appunto l'esame delle discordanze:

Tabella VIII

	Sculco		Superpressa	
Grasso in 1 q. di olive		22,72		22,92
Olio estratto da 1 q. di olive	18,24		19,21	
Grasso % nelle sanse	9,56		8,13	
Grasso in sansa di 1 q. di olive . . .	2,36		2,58	
Grasso sui e nei noccioli di 1 q. di olive	0,77		—	
Resa in oleificio + valore grasso in sanse e noccioli		21,37		21,79
Discordanze		1,35		1,13
Resa secondo le analisi di laboratorio		19,59		20,34

Si rileva dalla tabella che partendo da un contenuto iniziale di 22,72 kg. di olio nelle olive ne sono stati estratti, con la Sculco, kg. 18,24 con il seguente andamento riferito al graduale esaurimento delle paste:

Pasta all'inizio	Dati di laboratorio % grasso	Dati riferiti alla pasta di 1 q. di olive snocciolate
Pasta all'inizio	27,72	Kg. 21,95
Dopo la 1ª ora	23,12	» 16,46
» » 2ª »	15,32	» 8,80
» » 3ª »	10,82	» 3,95
» » 4ª »	10,10	» 3,00
» » 5ª »	9,50	» 2,36

In definitiva da un quintale di olive sono stati estratti, come si è detto, kg. 18,24 di olio; risultando le sanse, con esame in laboratorio, del 9,56 % in grasso pari a kg. 2,36 nella pasta ottenuta da un quintale di olive; con una discordanza che sarebbe di 2,12 kg. se non si dovesse tener conto del grasso contenuto nei noccioli oltre la frazione aderente sugli stessi per un totale di kg. 0,77 su un quintale di olive. Pertanto la discordanza si riduce a 1,35 e ciò per probabili perdite nella centrifugazione, residui nei recipienti, ecc., le quali sempre si lamentano nei diagrammi più rigorosi.

Nella lavorazione con la superpressa si è verificato che partendo da un contenuto di kg. 22,92 di olio nelle olive, kg. 19,21 sono stati estratti, 8,13 % si sono trovati nelle sanse pari a kg. 2,58 per un quintale di olive, per cui si è avuta una discordanza di 1,13 attribuibile alle stesse cause della Sculco.

Si conclude che le perdite di kg. 1,35 e 1,13 rispettivamente per la Sculco e per la superpressa non sono tali da consentire apprezzabili variazioni sul giudizio espresso in precedenza basandoci sulla resa in olio avuta in oleificio.

Avremmo voluto estendere anche l'esame alle presse a gabbia ma, poichè queste non erano in piena efficienza, non riteniamo opportuno riportare i dati che pure sono stati raccolti e che metterebbero in vista un maggiore esaurimento nelle sanse di detti macchinari.

L'umidità costituisce un fattore complementare del grasso, ma acquista grande importanza, come già è stato detto, per le paste Sculco che, esauste, presentano una umidità del 63,62 % partendo da una umidità iniziale del 52,44 %, mentre, per la superpressa, partendo da un valore del 48,10 nelle olive, si giunge al 23,34 % nelle sanse.

Tuttavia, per chiarire i mutamenti d'umidità durante la lavorazione sia per la Sculco che per la superpressa, necessita ricavare dai dati di laboratorio i valori riferiti al quintale di olive come già fatto in precedenza.

	Sculco		Superpressa	
	Dati di laboratorio %	Valori per q. di olive kg.	Dati di laboratorio %	Valore per q. di olive kg.
Paste all'inizio	52,44	42	48,10	48,10
Dopo la 1ª ora	55,21	35	—	—
» 2ª »	56,15	29	—	—
» 3ª »	59,00	22	—	—
» 4ª »	61,05	18	—	—
» 5ª »	63,62	16	—	—
Dopo 2 ore di pressione .	—	—	23,34	7,36

Dai dati riportati si nota che, alla fine della terza ora, insieme alla maggiore quantità di olio è sgocciolata anche la maggior quantità d'acqua (circa il 77 %) sul totale sgocciolato, rimanendo invece il 40 % nelle paste esauste sul totale contenuto inizialmente.

Risulta evidente, quindi, la probabilità che convenga sospendere la estrazione alla terza ora disidradando le paste con la pressione o altro mezzo idoneo non occorrendo, naturalmente, far fuoriuscire tutta l'acqua residua ma solo una parte, tale da portare l'umidità dal 60 al 30 % circa.

10. — Esame dei diagrammi di lavorazione in rapporto alla convenienza economica

A conclusione delle esperienze di oleificio eseguite nel 1950 presso questa Stazione agraria sperimentale si ritiene opportuno di sottoporre ad un esame comparativo economico il comportamento dei due sistemi sperimentati in parallelo, e cioè, l'apparecchiatura Sculco e la superpressa delle Officine Elettromeccaniche Pugliesi. Si esclude dal confronto il sistema delle presse a gabbia per le ragioni già esposte.

È bene ricordare che i dati di carattere economico, raccolti in sede sperimentale, non sono quelli dei massimi rendimenti, nè quelli delle maggiori economie ritraibili da ciascun sistema impiegato presso aziende private, dove — si sa — vi è la continuità di lavorazione, la massa notevole di prodotto, la vigilanza dell'imprenditore e l'assetto definitivo del ciclo di lavorazione secondo un diagramma portato al massimo di rendimento attraverso l'esperienza suggerita dai successivi anni d'impiego. Per contro, nelle lavorazioni sperimentali, tali condizioni non si verificano per discontinuità di lavorazione e insufficiente massa di prodotto da lavorare; perciò pur raccogliendo tutti i dati con molto rigore, non viene a riprodursi quel ciclo che è particolare delle aziende private a scopo speculativo. Ciò nonostante i dati sperimentali offrono possibilità di raggiungere giudizi di comparabilità e di approssimazione, a cui tuttavia ci si può riferire per calcoli di orientamento.

Con tali riserve passiamo ad esporre i calcoli di convenienza economica dei due sistemi sperimentati, così come sono emersi dai dati raccolti, avvertendo che, per insufficiente durata poliennale dell'esperienze, sono stati omessi i dati sulle quote di ammortamento, manutenzione e interessi passivi, che si possono ritrarre solo dopo lunghi cicli di lavorazione, riservandoci tuttavia qualche considerazione in sede di commento alle cifre.

I dati sull'impiego di mano d'opera e consumi di energia elettrica per quintale di olive lavorate, risultano dall'allegato XI; essi mettono in vista che la mano d'opera impiegata è maggiore nel diagramma della lavo-

razione con la superpressa (L. 205,00) di fronte alla Sculco (L. 117,48). Il consumo di energia segue la stessa graduatoria, essendo risultato rispettivamente di L. 75,16 e L. 43,83. In totale tra mano d'opera ed energia, il costo di lavorazione del quintale di olive è risultato rispettivamente di L. 280,00 e L. 161,00, per la superpressa e per la Sculco, per cui, ponendo uguale a cento il costo di lavorazione di quest'ultima, quello della superpressa risulta di 173,90.

Emerge pertanto una netta convenienza a favore del sistema Sculco, per quanto si attiene all'importo di mano d'opera e al consumo di energia.

Si rileva dal citato allegato, che sensibili differenze sono risultate entro lo stesso sistema, quando la centrifugazione dei mosti sia stata fatta con la De Laval o con la supercentrifuga Toniatti; su questo particolare aspetto è stato parlato anche in altra sede.

L'esame dei costi non è d'altra parte completo se non si tenga conto delle rese in olio, delle acidità e caratteristiche organolettiche di questo e dei valori dei sottoprodotti (sansa e noccioli) della lavorazione.

Come si è visto nei capitoli precedenti, i dati salienti sulle caratteristiche dei due sistemi sono risultati i seguenti:

Rese e caratteristiche organolettiche	Sculco	Superpressa
Resa in olio	18,24	19,21
Acidità dell'olio	0,68	1,23
Grasso nella sansa	9,56	8,13
Umidità nella sansa	63,62	23,34
Nocciol per Q. olive	21,46	—
Sansa per Q. olive	24,72	31,73
Grasso nella sansa per Q. olive . . .	2,36	2,58
Saggio organolettico olio . . .	ottimo	buono

Per comodità di calcolo conviene riferirsi al quintale di olive lavorate il cui costo viene posto, in base alle quotazioni mercantili dell'annata, in L. 8500; il valore della sansa viene posto in ragione del prezzo medio di L. 1500 al quintale; quello delle sanse Sculco, a cagione della loro elevata umidità ed in mancanza di un prezzo di mercato sono state calcolate in base a L. 500, 1000 e 1500; il valore dei noccioli a L. 400 al quintale, come materiale combustibile; il prezzo dell'olio in ragione di

L. 52.000 per l'extra e L. 50.000 per l'olio esente da difetti con acidità fino a 1,5.

L'esposizione del calcolo risponde praticamente a tutti i quesiti che possono prospettarsi per i diagrammi in esame come risulta dagli allegati XI e XII.

Si rileva infatti che la maggiore convenienza si realizza con l'impiego della superpressa con una media di L. 1300,79 di utile lordo per quintale di olive lavorate, con una oscillazione di L. 1310,20 per l'impiego della Toniatti a L. 1291,38 per l'impiego della De Laval (modello F.L. 8 U.R.). Segue, a breve intervallo, l'apparecchiatura Sculco, quando la sansa di questa sia venduta allo stesso prezzo delle sanse normali (1500) con una media di L. 1279,63 e oscillazioni comprese tra L. 1242,52 centrifuga De Laval, e L. 1316,74 con la Toniatti. Quando la sansa sia calcolata a L. 500 e L. 1000 nella previsione che, almeno nei momenti iniziali di diffusione della macchina, le industrie degli olî al solvente possono muovere qualche difficoltà per l'eccesso di umidità nelle sanse (63,62 %), i margini si abbassano ed assumono i seguenti valori medi: L. 1032,43 e L. 1156,03.

Occorre ora aggiungere qualche altra considerazione integrativa afferente alla quota di logorio stoini nella superpressa e a quella delle reti metalliche nella Sculco.

Tenuto conto che gli stoini sono stati pagati L. 900 ciascuno quelli di cocco e L. 500 quelli di fibra, abbiamo calcolato come media L. 700.

Una superpressa in giorni 60 lavorativi può lavorare quintali 2.400 di olive circa, in rapporto a 40 quintali al giorno. Per il lavoro continuo occore una dotazione doppia di stoini (120) il cui logorio viene calcolato intorno al 30-40 % per campagna. Pertanto, si ha una quota di spese di L. 84.000, il cui terzo per un valore di L. 28.000 annue ripartite su 2.400 quintali di olive lavorate corrisponde a L. 12 circa per quintale.

A fronte di questa spesa si trova per la Sculco il rinnovo delle retine metalliche, le quali — secondo le dichiarazioni della ditta costruttrice — avrebbero una durata da 3 a 4 campagne. Il costo delle quattro retine è di L. 90.000, che si ripartiscono sui quintali 10.800 nel caso dei tre anni e sui quintali 14.400 nel caso dei quattro anni: ne deriva un carico per quintale di olive lavorate, variabile da L. 6,25 a 8,30; corrispondente al 55-80 % della quota degli stoini.

In realtà il logorio degli stoini è uno dei punti deboli del sistema di estrazione con pressioni e, peggio, di quelle con superpressioni.

Questa considerazione mette in evidenza uno dei vantaggi principali degli apparecchi senza macina e senza pressione, apparecchi — come la

Sculco — che si devono considerare alla avanguardia della elaiotecnia, e verso i quali devono convergere, in piena collaborazione, gli sforzi degli industriali costruttori e dei tecnici dell'oleificio, perchè siano introdotte quelle ulteriori modifiche e miglioramenti, che sono apparsi già realizzabili (ulteriore disidratazione della sansa, maggiore rapidità dell'estrazione, sgrossatura dei mosti) e che sono reclamate dal progresso elaiotecnico.

Non occorre insistere su altri aspetti noti dell'estrazione con pressione, e cioè la influenza sfavorevole degli olî della mandorla delle olive e quella, ugualmente dannosa, dei residui oleosi trattenuti dagli stoini che, trasportati di lavorazione in lavorazione, provocano un maggior inacidimento agli olî di pressione.

Un'ultima considerazione va fatta per richiamare l'attenzione dei tecnici sull'uso delle supercentrifughe nella separazione dei mosti oleosi. I calcoli riportati pongono in evidenza che la supercentrifuga Toniatti ha consentito un maggiore margine da L. 20 a L. 74 per quintale di olive lavorate, ma è probabile che il margine sia maggiore dopo i recenti miglioramenti introdotti dalla Ditta. Non è solo questo l'aspetto saliente, poichè le qualità organolettiche degli olî ottenuti dalla supercentrifuga sono nettamente superiori a quelle delle centrifughe normali, sopratutto in rapporto agli aromi specifici e caratteristici delle olive, che si rinvengono nei supercentrifugati e che si attenuano fortemente nei centrifugati, mentre anche l'acidità sale di qualche linea in questi ultimi e diminuisce negli olî supercentrifugati.

RIASSUNTO

Viene riferito sulle esperienze di oleificio, eseguite nel 1950 presso la Stazione agraria sperimentale di Bari, circa le caratteristiche tecniche e la convenienza economica sull'impiego dell'apparecchiatura Sculco (senza macina, nè pressione delle olive) e della superpressa (con macina e pressione).

Viene preso in esame il diagramma di lavorazione, la resa in olio in oleificio di olive uguali per origine e varietà, le caratteristiche chimiche-organolettiche degli olî, la possibilità di integrare l'estrazione a mezzo della tensione superficiale con la pressione, la centrifugazione dei mosti oleosi, il rendimento delle macchine in base all'umidità e al grasso delle paste di queste, ed infine l'esame dei diagrammi in rapporto alla convenienza economica.

Viene considerata la convenienza economica dei due sistemi sperimentati, concludendo, che, allo stato attuale delle caratteristiche meccaniche dell'apparecchiatura Sculco gli utili sono inferiori a quelli della superpressa; ma le qualità chimiche-organolettiche degli olî sono nettamente superiori per l'estrazione con sistema Sculco.

SUMMARY

EXPERIMENTS IN OIL-MAKING EXECUTED IN 1950

by V. Carrante, M. Fenicia and S. De Donno

Information is given on the experiments in oil-making at the Stazione agraria sperimentale at Bari, on the characteristic techniques and the economic utility of the employment of the Sculco apparatus (without grinding or pressing of the olives) and of the super-press (with grinding and pressing).

Examination was made of the diagram of working, the yield in oil in oil-making with olives of the same origin and variety, the chemical-organoleptic characteristics of the oils, the possibility of integrating the extraction by means of superficial tension with pressing, the centriguation of the oleous musts, the yield of the machines in relation to humidity and to the fat of the olive pastes, and finally the examination of the diagrams in relation to economic utility.

The economic utility of the two experimental systems was considered and the conclusion reached that in the present state of the mechanical characteristics of the Sculco apparatus, its advantages are inferior to those of the super-press, but the chemical-organoleptic qualities of the oils are clearly superior for the extraction with the Sculco system.

Ricevuto il 14 luglio 1951

Allegato I

Sistema Sculco. - Dati di oleificio

Data	Varietà e provenienza	Olive Kg.	Peso					
			Pasta %	Noccioli %	Olio mosto %	Olio estratto %	Acqua vegetale %	Sanse %
8-XI-1950	«Cima di Mola» . . . . Torre a Mare	1.200	80,00	19,00	54,00	17,00	22,00	26,00
10-XI-1950	Miste S. A. S.	250	78,00	21,00	54,00	16,00	38,00	24,00
13-XI-1950	«Coratine» S. A. S. . . .	408	78,00	27,00	54,00	17,80	36,00	26,00
15-XI-1950	«Paesane» Bari	300	75,00	26,00	56,00	16,66	39,00	23,00
16-XI-1950	» »	270	75,00	26,00	56,00	16,00	37,00	22,00
17-XI-1950	» »	1.000	80,00	25,00	57,00	16,80	40,00	23,00
20-XI-1950	Miste S. A. S.	250	80,00	25,00	55,00	17,60	35,00	25,00
21-XI-1950	» »	250	77,00	19,00	52,00	19,60	33,00	25,00
22-XI-1950	» »	500	78,00	22,00	52,00	17,60	34,00	25,00
23-XI-1950	Cascola S. A. S.	750	77,00	22,00	54,00	19,00	35,00	24,00
24-XI-1950	Miste S. A. S.	500	80,00	19,00	57,00	17,20	41,00	23,00
27-XI-1950	» »	1.000	80,00	20,00	59,00	18,12	41,00	20,00
30-XI-1950	«Coratine» Barletta . .	400	80,00	22,00	59,00	18,25	41,00	22,00
30-XI-1950	» » . .	600	80,00	22,00	55,00	18,33	35,00	23,00
1-XII-1950	» » . .	400	80,00	22,00	57,00	18,00	39,00	21,00
1-XII-1950	» » . .	600	80,00	22,00	55,00	18,33	38,00	22,00
2-XII-1950	«Coratine» Corato . . .	763	79,00	23,00	54,00	18,00	35,00	21,00
5-XII-1950	«Coratine» Andria . . .	800	78,00	22,00	59,00	19,65	40,00	21,00
12-XII-1950	Miste Bitetto	1.200	80,00	22,00	50,00	18,00	32,00	27,00
15-XII-1950	«Coratine» Corato . . .	1.000	80,00	21,00	48,00	18,40	30,00	32,00
18-XII-1950	» » . . .	600	80,00	20,00	64,00	18,08	46,00	22,00
20-XII-1950	» » . . .	730	80,00	20,00	48,00	18,92	30,00	32,00
21-XII-1950	» » . . .	752	80,00	20,00	51,00	20,74	30,00	23,00
27-XII-1950	«Paesane» Casamassima	1.222	79,00	22,00	46,00	18,00	29,00	30,00
2-II-1951	Miste Grumo	1.200	79,00	21,00	51,00	20,10	31,00	24,00
	Totale . . .	16.945	—	—	—	—	—	—
	Media aritmetica . . .	—	78,92	21,92	53,84	18,08	35,48	24,28
	Media ponderale . . .	—	79,23	21,46	53,58	18,24	34,28	24,72

Allegato II

Sistema Sculco. – Determinazioni di laboratorio *

Data	Acidità %	Olio				Umidità			
		Olive %	Pasta %	Sui noccioli %	Sansa %	Olive %	Pasta %	Sui noccioli %	Sansa %
8–XI–1950	0,45	22,10	27,10	1,32	10,72	47,10	50,90	12,10	65,90
10–XI–1950	0,45	21,20	27,57	1,40	8,25	50,35	55,35	12,50	63,20
13–XI–1950	0,36	20,90	25,57	1,35	8,25	44,00	54,00	12,50	63,20
15–XI–1950	0,51	20,75	27,90	—	8,70	47,20	54,47	—	63,50
16–XI–1950	0,53	20,75	27,90	—	10,00	47,20	54,47	—	63,00
17–XI–1950	0,53	22,88	28,00	—	8,50	44,80	52,00	—	64,00
20–XI–1950	0,56	23,20	26,65	1,31	9,60	46,35	53,95	16,40	67,00
21–XI–1950	0,62	22,05	30,55	1,40	7,25	48,50	52,65	15,10	62,20
22–XI–1950	1,12	24,60	28,95	1,40	8,50	44,90	51,55	13,90	60,90
23–XI–1950	3,19	24,60	29,95	1,45	11,00	41,00	47,75	16,00	62,00
24–XI–1950	0,73	23,11	28,00	1,35	11,20	47,00	54,17	13,80	66,80
27–XI–1950	0,87	22,85	29,05	—	10,45	44,52	53,15	—	65,30
30–XI–1950	0,37	20,65	26,00	1,50	11,35	49,25	55,20	15,00	64,20
30–XI–1950	0,37	20,65	26,00	1,50	12,45	49,25	55,20	15,00	59,70
1–XII–1950	0,33	20,65	26,00	—	11,07	49,25	55,20	—	65,10
1–XII–1950	0,33	20,65	26,00	—	11,49	49,25	55,20	—	64,60
2–XII–1950	0,25	20,00	26,10	1,59	9,50	48,00	55,45	16,10	65,00
5–XII–1950	0,53	25,45	28,30	2,01	10,75	47,10	52,75	16,00	62,80
12–XII–1950	0,25	21,05	26,00	—	10,05	47,00	55,00	—	62,60
15–XII–1950	0,22	24,05	28,55	1,97	7,55	43,80	50,17	15,70	65,10
18–XII–1950	0,31	24,05	28,55	1,48	7,45	43,80	50,17	15,80	42,10
20–XII–1950	0,19	23,05	28,40	1,44	10,40	42,10	50,80	14,10	63,90
21–XII–1950	0,28	25,00	29,15	1,51	10,00	44,00	51,10	15,10	65,00
27–XII–1950	0,93	23,00	27,00	1,54	7,15	45,00	48,00	17,00	63,10
2–II–1951	1,69	24,33	29,85	1,50	8,55	44,00	52,15	22,90	70,70
Media aritmetica	0,64	22,56	27,72	1,50	9,57	46,38	53,26	16,67	63,30
Media ponderale	0,68	22,72	27,72	1,55	9,56	45,71	52,44	15,74	63,62

* Varietà e provenienza delle olive come da tabella I.

Allegato III

Sistema Superpressa. – Dati di oleificio

Data	Varietà e provenienza	Peso				
		Olive kg.	Olio mosto %	Olio estratto %	Acqua vegetazione %	Sanse %
12-XI-1950	«Coratine» S. A. S. . . .	230	65,00	19,00	48,00	34,00
13-XI-1950	» » . . .	230	67,00	19,10	48,00	33,00
15-XI-1950	«Paesane» Bari	230	69,00	16,95	50,00	33,00
18-XI-1950	» »	240	75,00	21,20	53,00	33,00
20-XI-1950	Miste S. A. S.	250	63,00	18,00	45,00	34,00
21-XI-1950	» »	250	66,00	21,80	47,00	31,00
22-XI-1950	» »	250	62,00	16,40	45,00	31,00
22-XI-1950	» »	250	63,00	19,60	44,00	35,00
24-XI-1950	» »	250	63,00	19,20	43,00	31,00
24-XI-1950	» »	250	68,00	20,00	48,00	31,00
25-XI-1950	» »	250	62,00	19,20	43,00	31,00
25-XI-1950	» »	250	66,00	19,60	46,00	31,00
27-XI-1950	» »	250	62,00	19,20	43,00	32,00
27-XI-1950	» »	250	66,00	19,60	46,00	34,00
30-XI-1950	«Coratine» Barletta . .	275	69,00	18,50	50,00	30,00
30-XI-1950	» » . .	275	68,00	18,90	50,00	30,00
1-XII-1950	» » . .	250	63,00	18,80	45,00	30,00
1-XII-1950	» » . .	250	64,00	17,20	47,00	31,00
5-XII-1950	» Andria . .	250	68,00	20,40	46,00	31,00
5-XII-1950	» » . .	250	67,00	21,20	42,00	31,00
12-XII-1950	Miste Bitetto	250	68,00	18,00	50,00	30,00
13-XII-1950	» »	250	68,00	18,40	50,00	30,00
13-XII-1950	» »	250	67,00	18,40	49,00	30,00
15-XII-1950	«Coratine» Corato . . .	250	50,00	21,20	28,00	33,00
18-XII-1950	» » . . .	250	54,00	19,20	35,00	30,00
21-XII-1950	» » . . .	250	54,00	20,40	34,00	36,00
	Totale . . .	6,480	—	—	—	—
	Media aritmetica . . .	—	64,50	19,20	45,35	31,73
	Media ponderale . . .	—	64,49	19,21	45,80	31,73

Allegato IV

Sistema Superpressa. – Determinazioni di laboratorio

Data	Acidità %	Olio		Umidità	
		Olive %	Sanse %	Olive %	Sanse %
12–XI–1950	0,59	21,20	6,04	47,50	19,80
13–XI–1950	0,59	21,15	9,32	47,50	21,80
15–XI–1950	0,63	20,75	9,20	47,20	20,15
18–XI–1950	0,69	23,00	6,40	52,32	27,35
20–XI–1950	0,85	23,20	7,70	46,35	23,35
21–XI–1950	0,98	22,05	6,15	48,05	21,05
22–XI–1950	1,75	24,60	8,50	44,90	24,45
22–XI–1950	1,57	24,60	9,50	44,90	26,60
24–XI–1950	1,30	23,11	7,00	47,00	26,00
24–XI–1950	1,30	23,11	6,55	47,00	22,10
25–XI–1950	2,17	26,90	6,95	43,15	22,90
25–XI–1950	1,27	26,90	8,15	43,15	23,15
27–XI–1950	1,55	22,85	7,00	44,52	23,00
27–XI–1950	1,55	22,85	6,50	44,52	23,00
30–XI–1950	1,21	20,65	9,00	49,25	23,70
30–XI–1950	1,21	20,65	10,35	49,25	26,72
1–XII–1950	1,21	20,65	8,95	49,25	22,10
1–XII–1950	1,21	20,65	10,45	49,25	22,85
5–XII–1950	0,87	25,45	9,00	47,10	20,00
5–XII–1950	0,87	25,45	9,45	47,10	21,07
12–XII–1950	1,13	21,05	9,00	47,00	25,00
13–XII–1950	1,13	21,05	8,55	47,00	24,45
13–XII–1950	1,13	21,05	8,55	47,00	24,45
15–XII–1950	1,58	24,05	6,70	43,80	22,60
18–XII–1950	1,86	24,05	7,55	43,80	22,55
21–XII–1950	1,69	25,00	8,65	44,00	24,65
Media aritmetica	1,22	22,92	8,12	47,00	23,26
Media ponderale	1,23	22,92	8,13	48,10	23,34

Allegato V

Sistema presse a gabbia. – Dati di oleificio

Data	Varietà e provenienza	Peso				
		Olive kg.	Olio mosto %	Olio estratto %	Acqua veget. %	Sanse %
20-XI-1950	Miste S. A. S.	250	46,00	14,80	30,00	28,00
27-XI-1950	» »	225	54,00	16,37	41,00	33,00
30-XI-1950	«Coratine» Barletta . .	200	66,05	17,00	50,00	26,00
1-XII-1950	» » . .	200	60,00	18,50	42,00	29,00
5-XII-1950	» Andria	200	71,00	21,50	49,00	28,00
15-XII-1950	» Corato	200	47,00	18,50	29,00	30,00
26-XII-1950	» Casamassima .	200	61,00	17,00	44,00	30,00
27-XII-1950	«Paesane» Casamassima	200	60,00	17,50	42,00	30,00
	Totale . . .	1675	—	—	—	—
	Media aritmetica . . .	—	58,12	17,65	40,88	29,25
	Media ponderale . . .	—	57,70	17,54	40,55	29,86

Allegato VI

Sistema presse a gabbia
Determinazioni di laboratorio

Data	Acidità %	Olio		Umidità	
		Olive %	Sanse %	Olive %	Sanse %
20-XI-1950	—	23,20	6,75	46,35	25,00
27-XI-1950	—	22,85	6,75	44,52	23,01
30-XI-1950	1,20	20,65	7,35	49,25	26,35
1-XII-1950	1,38	20,65	7,50	49,25	25,00
5-XII-1950	1,21	25,45	6,60	47,10	25,25
15-XII-1950	2,96	24,05	6,40	43,80	28,50
26-XII-1950	3,75	23,50	7,95	44,22	21,81
27-XII-1950	3,13	23,00	6,45	45,00	24,90
Media aritmetica	2,49	22,92	6,97	46,18	24,98
Media ponderale	2,27	22,56	6,95	46,16	25,00

Varietà	Provenienza	Rese per il contenuto reale in olio nelle olive: Sculco	Superpressa	Gabbia	Rese per un contenuto calcolato del 23% in olio nelle olive: Sculco	Superpressa	Gabbia
Olive di cascola	S. A. S.	19,00	—	—	17,76	—	—
«Cima di Mola»	Torre a Mare	17,00	—	—	17,69	—	—
Miste	S. A. S.	17,75	19,26	15,54	17,73	18,44	15,51
	Bitetto	18,00	18,26	—	19,66	19,95	—
	Grumo	20,10	—	—	19,00	—	—
Media miste per sistema . . .		18,35	19,03	15,54	18,46	18,47	15,51
Media miste . . .		18,45 %			18,41 %		
«Coratina»	S. A. S.	17,80	19,05	—	19,58	20,69	—
	Barletta	18,24	18,36	17,75	20,31	20,40	19,77
	Corato	18,82	20,26	18,50	78,62	19,12	17,69
	Andria	19,65	20,80	21,50	17,75	18,79	19,78
	Casamassima	—	—	17,00	—	—	19,06
Media «Coratina» per sistema . . .		18,69	20,10	18,50	19,00	20,80	19,11
Media «Coratina» . . .		18,86 %			19,20 %		
«Ogliarola di Bitonto» o «Paesana»	Bari	16,63	19,12	—	17,30	20,08	—
	Casamassima	18,00	—	17,50	18,00	—	17,50
Media «Ogliarola» per sistema . . .		17,23	19,12	17,50	17,62	20,08	17,50
Media «Ogliarola» . . .		17,50 %			17,91 %		
Media ponderale per sistema . . .		18,24	19,21	—	18,46	19,27	—
Media ponderale generale . . .		18,44 %			18,63 %		

Confronto risultati di oleificio e di laboratorio per olive uguali per origine e varietà

Data	Varietà e provenienza	Dati d'oleificio										Dati di laboratorio							
		Olive kg.		Olio mosto %		Olio estratto %		Acqua veget. %		Sanse %		Olio olive %	Olio sanse %		Umidità %			Acidità %	
																Sansa			
		Sc. *	Sp. **	Sc.	Sp.	Sc.	Sp.	Sc.	Sp.	Sc.	Sp.	***	Sc.	Sp.	Olive	Sc.	Sp.	Sc.	Sp.
15-XI-1950	« Paesana » Bari . . .	300	230	56	69	16,66	16,95	39	50	23,00	33,00	20,75	8,70	9,20	47,20	63,50	20,15	0,51	0,63
	Medie . . .	300	230	56	69	16,66	16,95	39	50	23,00	33,00	20,75	8,70	9,20	47,20	63,50	20,15	0,51	0,63
20-XI-1950	Miste Bari	250	250	55	73	17,70	18,00	35	45	25,00	34,00	23,20	9,60	7,70	46,35	67,0	23,35	0,56	0,85
21-XI-1950	» »	250	250	52	66	19,60	21,80	33	47	25	31	22,05	7,25	6,15	48,05	62,2	21,05	0,62	0,98
22-XI-1950	» »	500	250	52	62	17,60	16,40	34	45	25	31	24,60	8,50	8,50	44,90	60,9	24,45	1,12	1,75
24-XI-1950	» »	500	250	57	63	17,20	19,20	41	43	23	31	23,11	11,20	7,0	47,0	66,8	26,0	0,73	1,30
	Medie . . .	—	—	54	66	18,02	18,85	35	45	24,5	32	23,24	9,14	7,84	46,58	64,2	23,71	0,76	1,22
30-XI-1950	« Coratine » Barletta	400	275	59	69	18,25	18,50	41	50	22	30	20,65	11,35	9,00	49,25	64,2	23,70	0,37	1,21
30-XI-1950	» »	600	275	55	68	18,33	18,90	35	50	23	30	20,65	12,45	10,35	49,25	59,70	26,72	0,37	1,21
5-XII-1950	« Coratine » Andria .	800	250	59	68	19,65	20,40	40	46	21	31	25,45	10,75	9,00	47,10	62,8	20,00	0,33	0,87
15-XII-1950	« Coratine » Corato .	1000	250	48	50	18,40	21,20	30	38	32	33	24,05	7,55	6,70	43,8	65,10	22,60	0,22	1,58
21-XII-1950	» » .	752	250	51	54	20,74	20,40	30	34	23	35	25,00	10,0	8,65	44,0	65,0	24,65	0,28	1,69
	Medie . . .	—	—	54,4	61,8	19,07	19,88	35,04	43,6	24,26	31,80	23,16	10,44	8,64	46,60	63,56	23,53	0,31	1,31
	Medie generali . . .	—	—	54,8	65,6	17,91	18,56	36,54	46,2	23,92	32,27	22,38	9,42	8,56	46,79	63,75	22,46	0,52	1,05

* Sc. = Sculco. ** Sp. = superpressa.

*** I campioni di olive sono uguali per la superpressa e per la Sculco.

Allegato IX

Esperimenti di lavorazione mista Sculco. – Pressione

Giorno	Resa iniziale	Mescolanze delle paste esauste	Pressione adottata	Resa supplementare in olio e mosto	Resa totale
13-XI-1950	Superpr. 18,7 Sculco 18,1–6 h.	con sansa super 20 %	torre chiusa 12 poll. 250 atm.	mosto 5,39 % olio nulla (la pasta schizza)	18,7 18,1
18-XII-1950	Superpr. 19,2 Sculco 17,75–9 h.	con sansa super 25 %	super 14 poll. 400 atm.	mosto 10 % olio 0,3 %	19,2 18,05
20-XII-1950	Sculco 17,53–7 h.	con sansa super 25 %	super 14 poll. 400 atm.	mosto 13 % olio 1,37 %	18,90
21-XII-1950	Superpr. 20,4 Sculco 19,28–8 h.	con sansa super 25 %	super 14 poll. 400 atm.	mosto 13 % olio 1,19 %	20,4 20,47
22-XII-1950	Sculco 19,6–5 h.	con sansa super 20 %	torre chiusa 12 poll. 250 atm.	mosto: nulla olio perchè schiz.	19,6
26-XII-1950	Gabbie 17 Sculco 15,5–5 h.	con sansa super 20 %	torre chiusa 12 poll. 250 atm.	mosto 12 % olio 0,75 %	17 16,25
29-XII-1950		con paglia 10 %	frantoio slitta super fiscoli torti	mosto X olio O	
15-XI-1950		con 50 % sfarin. nocc. Lignotero	torchio Mabille	mosto 8 % olio tracce	

Allegato X

Rendimento dei mosti oleosi. – Alla centrifugazione

	Mosti Sculco		Mosti superpressa
	De Laval	Toniatti	
1) Produzione oraria olio			
a) Mosti 1ª ora	48 kg. olio	44 kg. olio	Operando con mosti estratti durante la prima ora di pressione, la resa in olio si è aggirata sul 15–20 %; su quelli della seconda ora è salita al 30–35 % in rapporto alla maggiore ricchezza in grassi del mosto. In media si sono ottenute le seguenti produzioni orarie in olio:
b) » 2ª »	52 » »	49 » »	
c) » 3ª »	40 » »	35 » »	
d) » 4ª »	20 » »	17 » »	
e) » 5ª »	18 » »	15 » »	
2) Turni di pulizia			
a) Mosti 1ª ora	75′	98′	De Laval: 43 Kg. — Toniatti: 37 Kg.
b) » 2ª »	49′	63′	
c) » 3ª »	42′	57′	
d) » 4ª »	27′	38′	I fondami in centrifuga presentano le stesse caratteristiche per le due centrifughe come detto per i mosti Sculco. I turni di pulizia assumono all'incirca i seguenti valori:
e) » 5ª »	20′	28′	
3) Fondami *			
Peso	4 kg.	6 kg.	De Laval: 6 ore — Toniatti: 8 ore
Contenuto in olio . .	9,4 %	7,55 %	
Contenuto in umidità .	78 %	32 %	

* Per ogni turno di pulizia delle centrifughe.

Costo di lavorazione di un quintale di olive

ALLEGATO XI

(1 h. lavorativa = L. 100, 1 Kw. L. 37,15 escluso quote ammortamenti e interessi)

	Mano d'opera			Energia Kw.		
Sculco De Laval . .	Lavat., snocciolatura	13′		Lavat., snocc.	0,38	
	Centrifugazione	50′	88′ = L. 146,66	Estrattore	0,20	1,38 = L. 51,26 = Tot. 198,92
	Pulizia centrifuga	55′		Centrifuga	0,80	
Sculco Toniatti . .	Lavat., snocciolatura	13′		Lavat., snocc.	0,38	
	Centrifugazione	20′	53′ = L. 88,30	Estrattore	0,20	0,98 = L. 36,40 = Tot. 124,70
	Pulizia centrifuga	20′		Centrifuga	0,40	
Superpressa De Laval	Macina e carico torre	53′		Macina	0,54	
	Estrazione e scarico	35′	123′ = L. 205,00	Superpressa	0,63	2,27 = L. 84,57 = Tot. 289,57
	Centrifugazione	25′		Centrifuga	1,10	
	Pulizia centrifuga	10′				
Superpressa Toniatti	Macina e carico torre	53′		Macina	0,54	
	Estrazione e scarico	35′	123′ = L. 205,00	Superpressa	0,63	1,77 = L. 65,75 = Tot. 270,75
	Centrifugazione	30′		Centrifuga	0,60	
	Pulizia centrifuga	5′				

Calcolo economico in base alla formula

ALLEGATO XII

U = (Po × Ro) + Vs — (Pv + Sl) in cui Po = prezzo kg. olio, Ro = resa olio %, Vs = valore sottoprodotti, Pv = prezzo q.le olive, Sl = spese lavorazione, U = utile lordo q.le olive

Sculco . .	Prezzo sansa L. 500 q.le	(520 × 18,24) + (24,72 × 5 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 198,92) =	995,32 De Laval
	» noccioli » 400 »	(520 × 18,24) + (24,72 × 5 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 124,70) =	1.069,54 Toniatti
		(520 × 18,24) + (24,72 × 5 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 161,81) =	1.032,43 Media
	Prezzo sansa L. 1.000 q.le	(520 × 18,24) + (24,72 × 10 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 198,92) =	1.118,92 De Laval
	» noccioli » 400 »	(520 × 18,24) + (24,72 × 10 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 124,70) =	1.193,14 Toniatti
		(520 × 18,24) + (24,72 × 10 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 161,81) =	1.156,03 Media
	Prezzo sansa L. 1.500 q.le	(520 × 18,24) + (24,72 × 15 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 198,92) =	1.242,52 De Laval
	» noccioli » 400 »	(520 × 18,24) + (24,72 × 15 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 124,70) =	1.316,74 Toniatti
		(520 × 18,24) + (24,72 × 15 + 21,46 × 4)	— (8.500 + 161,81) =	1.279,63 Media
Superpresse	Prezzo sansa L. 1.500 q.le	(500 × 19,21) + (31,73 × 15)	— (8.500 + 289,57) =	1.291,38 De Laval
		(500 × 19,21) + (31,73 × 15)	— (8.500 + 270,75) =	1.310,20 Toniatti
		(500 × 19,21) + (31,73 × 15)	— (8.500 + 280,16) =	1.300,79 Media

STAZIONE AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

Salvatore Di Prima

STUDI E RICERCHE INTORNO ALL'UMIDITÀ E ALLA TEMPERATURA IN PUGLIA

Premessa

In connessione con i problemi agrari si stanno intraprendendo esperienze per approfondire le conoscenze sull'andamento bioclimatologico e sull'influenza degli elementi meteorici nell'agricoltura in Puglia.

Per tale motivo la Stazione agraria sperimentale di Bari — in vista della necessità di ampliare e approfondire altri problemi agrari e sentendo il bisogno di rilevare dati meteorici esatti e per quanto possibile vicino all'ambiente in cui si svolge la vita delle piante — ha dato incarico allo scrivente d'istituire una rete di stazioni meteorologiche (con circa 20 nuovi impianti; vedasi fig. 1) per le osservazioni complete e dirette dei fattori atmosferici in pieno campo e nelle località più caratteristiche, dotate dei seguenti apparecchi: termoigrografo, termometri a massima e minima, eliofanografo, piranografo, geotermografo, pluviografo, evaporigrafo, anemografo e barografo.

Come studio particolare, si riferisce in questa Nota sulla ricerca che si sta approfondendo su due fattori meteorologici la cui importanza non è stata ancora debitamente valutata nei riguardi dell'agricoltura: umidità e temperatura. Facendo un breve confronto di questi due agenti atmosferici con gli altri, si nota che la misura dell'umidità dell'aria e del terreno è di gran lunga più importante di quella della precipitazione; del resto basti pensare che ogni pianta ha bisogno dell'acqua non tanto allo stato libero e liquido quanto per potere assorbire con l'umidità che fornisce le sostanze nutritive (sali, ecc.) della terra e che il diverso stato di umidità (in concomitanza con la temperatura) favorisce o meno lo sviluppo degli organi vegetativi, i fenomeni di riproduzione delle piante, la traspira-

FIG. 1. – Disposizione della rete di stazioni meteorologiche-agrarie in Puglia dipendenti dalla Stazione agraria sperimentale di Bari.

zione *, ed è tra i più importanti fattori delle variazioni del quantitativo e della qualità di raccolto. Ho potuto constatare che, ai fini sperimentali, non ha quasi alcuna importanza calcolare le variazioni di precipitazione da una annata all'altra e che, solo per determinate esperienze, è necessario conoscere l'epoca e la durata delle piogge per i punti critici: le osservazioni sull'umidità nel terreno e nell'aria risultano invece più fastidiose, ma più importanti e possono quindi, in certo qual modo, sostituire quelle sulle precipitazioni.

Se si tralascia l'azione meccanica del vento, esso risulta collegato, come direzione ed intensità, all'umidità e alla temperatura. Quest'ultimo fattore meteorologico ha una notevole importanza non sufficientemente

* Il complesso movimento delle particelle acquose attraverso, dentro e fuori le piante, è dovuto alla ricerca d'equilibrio di tale elemento nel terreno, nella pianta e nell'atmosfera. Infatti l'aliquota dell'acqua che evade dalle pareti colloidali del mesofillo è una funzione dell'interazione di forze interne ed esterne e della loro influenza sulla tensione di aspirazione d'acqua nelle pareti e negli spazi intercellulari per cui, con un adeguato approvvigionamento di acqua, le normali e giornaliere fluttuazioni delle condizioni meteorologiche si riflettono sugli andamenti giornalieri della traspirazione. I limiti di traspirazione per la maggior parte delle colture vanno da 250 a 800 kg. di acqua per kg. di sostanza secca formata; la traspirazione è quasi il doppio in ambiente umido rispetto all'ambiente molto secco e varia secondo le fasi del ciclo vegetativo.

riconosciuta dagli sperimentatori, essendo la pianta per esso in particolare modo sensibile; per quanto riguarda la produzione ho potuto fare notare in una precedente memoria * che la sua influenza è molto più preponderante, a parità di condizioni, della pioggia stessa; è noto che non può farsi a meno della misura della temperatura media, minima e massima per molte ricerche agrarie per determinate località. Inutile accennare il diretto collegamento tra umidità e temperatura; si sa poi che entrambe sono vincolate alla altitudine (e alla pressione atmosferica) e latitudine. Si può tralasciare in questa nota di considerare gli altri fattori.

Messo sommariamente a punto l'importanza dei due fattori meteorologici accennati, si passa a trattare del nostro argomento sulle ricerche in corso, intraprese per migliorare appunto le osservazioni della umidità e temperatura (fig. 2).

Dalle prime deduzioni delle ricerche iniziate emerge senz'altro la opportunità che le osservazioni si estendano ad un numero piuttosto elevato di località e che vengano effettuate con massima uniformità oltrechè precisione. Per mancanza di personale specializzato, per diverse difficoltà pratiche prevedibili e non prevedibili e per esperienze in merito, si è portati a consigliare gli strumenti registratori in ogni stazione e di tenere come complemento lo psicrometro ed i termometri, e tra gli apparecchi registratori ha dato buona prova il termoigrografo M T 11 della S.I.A.P. di Bologna **.

1. — Ricerche sull'umidità e temperatura nell'atmosfera

Il suddetto apparecchio, come tutti quelli registratori dell'umidità relativa e della temperatura, pur indicando chiaramente le caratteristiche del fenomeno che registra, è utile quando viene analizzato dai meteorologi e per un lasso di tempo non molto lungo; ma allorchè si viene a considerare l'andamento meteorico per una lunga serie di anni e per diverse stazioni, allora il procedimento statistico sui grafici ci costringe a fissare solo le medie (su due o quattro osservazioni giornaliere) e le escursioni e tali dati, specialmente per i comuni studiosi, non lasciano vedere (o con

---

* Di Prima, S. Alcune relazioni tra pioggia, temperatura e produzione in quattro razze di frumento coltivate per un ventennio a Bari. *Riv. di Ecologia,* Perugia, 1950.

** Il termoigrografo è un apparecchio multiplo, combinato da un termografo (tubo di Bourdon metallico a forma anulare e sezione ellittica riempito di liquido speciale) e da un igrografo (fascio di capelli tipo Saussure), il quale quindi registra contemporaneamente le variazioni di temperatura e di umidità dell'aria (caratteristiche che sono, come già si è detto, legate intimamente le une alle altre) su diagrammi sovrapposti e facilmente confrontabili.

Fig. 2. – Precipitazioni e temperature in Puglia nel 1921–30 secondo l'Ufficio Centrale di Meteorologia ed Ecologia Agraria di Roma. A sinistra: le isoiete stagionali; dal basso in alto: in estate, autunno, inverno e primavera. A destra: in basso, le isoterme di gennaio e luglio; in alto, le isoiete e isoterme annuali.

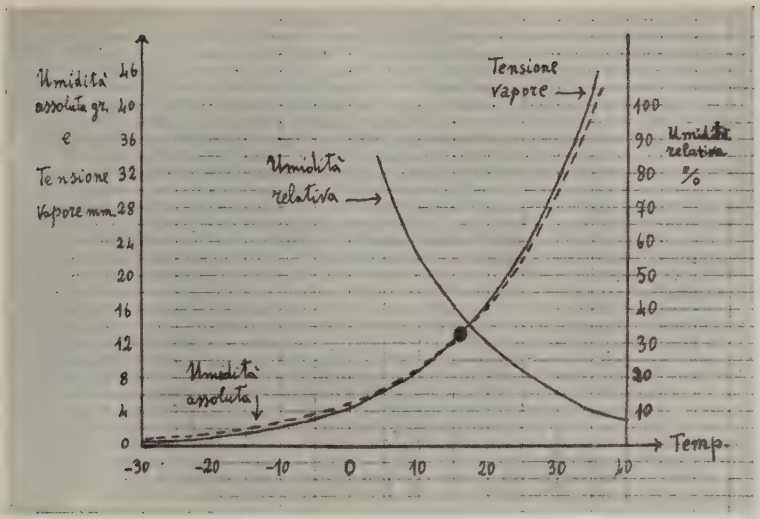


FIG. 3. – Grafici mostranti le relazioni tra l'umidità assoluta e la temperatura, tra la tensione di vapore (linea tratteggiata) e la temperatura, tra l'umidità relativa (in un'atmosfera contenente gr. 4 di vapore acqueo su un kg. di aria secca) e la temperatura.

molta fatica) il susseguirsi di masse d'aria umida o secca, o fredda o calda, la loro durata, l'intensità ed i passaggi di discontinuità.

Si sente quindi il bisogno, specialmente per studî e ricerche d'agraria e di biostatistica, di essere provvisti, pur lasciando il termoigrografo che mostra in modo evidente le più o meno profonde variazioni della temperatura e dell'umidità relativa * per effetto del riscaldamento diurno e del raffreddamento notturno, di un apparecchio che registri anche l'umidità assoluta e le sole variazioni giornaliere della temperatura dalla media.

Il problema consiste insomma nell'eliminare le più o meno ampie oscillazioni giornaliere della temperatura per far risaltare evidentemente

---

* L'umidità relativa è il rapporto fra il peso del vapore attualmente contenuto nell'aria (o tensione attuale) e del peso del vapore nell'aria satura (o tensione massima) a quella temperatura e pressione; l'umidità assoluta (gr./mc.) [o specifica: gr./kg. di aria secca] è il peso del vapor d'acqua contenuto in 1 mc. d'aria [o unità di peso dell'aria] e corrisponde press'a poco (ritenendosi proporzionale alla forza elastica) alla tensione del vapore acqueo in mm. di Hg. (vedasi fig. 3, dove si nota che essendo $p = 1{,}0582 \frac{e}{1 + 0{,}00367\ t}$, per $t \cong 16$ si ha che il peso p del vapore acqueo è uguale alla sua tensione e). Queste due grandezze sono legate tra loro dalla relazione $s = u.S$, cioè il valore dell'umidità specifica è uguale al prodotto dell'umidità relativa per il contenuto massimo di vapor d'acqua (umidità specifica massima) alla temperatura e alla pressione date, per cui si hanno apposite tabelle numeriche per i singoli passaggi.

le più o meno forti variazioni o le permanenze di masse d'aria * diversamente calde e umide. Si consideri a tale scopo che in un'atmosfera contenente gr. 4 di vapore acqueo su un kg. di aria secca si hanno sensibili variazioni d'umidità relativa (come è indicato nella fig. 3) al cambiare delle temperatura; e, per esempio, si è accertato che ad un cambiamento di temperatura da 4,5° C. a 10° C. si ottiene una variazione della umidità relativa dal 76 % al 54 %.

Si riportano alcuni valori dell'umidità relativa per l'annata 1950-51 a Bari e a Foggia (i valori completi riassuntivi anche per le altre stazioni della Puglia saranno pubblicati in appresso):

Bari:	Lug.	Ag.	Set.	Ott.	Nov.	Dic.	Gen.	Feb.	Mar.	Apr.	Mag.	Giu.
media massima	88	89	96	88	96	98	95	92	93	92	92	86
media minima	38	37	40	51	43	51	53	49	47	43	37	48

Foggia:	Lug.	Ag.	Set.	Ott.	Nov.	Dic.	Gen.	Feb.	Mar.	Apr.	Mag.	Giu.
media ore 8	61	46	59	73	79	83	87	84	84	90	76	62
media ore 14	41	34	37	47	61	77	73	63	70	63	51	37
media ore 19	52	46	51	56	74	80	81	81	77	69	68	54

Come si rileva dalla precedente tabella non si ha una completa visuale del fenomeno per cui occorre un mezzo integrativo, mediante opportune modifiche all'apparecchio. Un dispositivo alquanto preciso di registratore di umidità specifica è stato descritto da Morasca ** ed è costituito da due meccanismi per trasformare le variazioni della temperatura in deviazioni proporzionali all'umidità specifica massima e per ottenere spostamenti eguali al prodotto del precedente fattore per l'umidità relativa. Un apparecchio simile, del quale si auspica il realizzo in esemplare sperimentale e la costruzione da parte di serie ditte, ha bisogno solo di lievi miglioramenti e modifiche, fermo restando il principio di funzionamento. Pertanto, per non complicare l'apparecchio, si prospetta l'opportunità di trasformare gli spostamenti logaritmici dell'umidità relativa ottenuti dal fascio di capelli in deviazioni linearmente proporzionali, modificando opportunamente la scala dei diagrammi. Altra lieve modifica nel dispositivo può farsi (come da fig. 4) nel semplificare il sistema di rolline, assi e bracci, ma rendendo il meccanismo più delicato, da eseguirsi con opportuni e minuziosi calcoli, e invertendo il senso usuale della scala dei diagrammi.

---

* Un litro di vapore pesa 0,622 volte un litro d'aria secca alle medesime condizioni di temperatura e di pressione.

** Morasca, N. Registratore di umidità specifica. *Rivista di Meteorologia aeronautica*, Roma, luglio-settembre 1948.

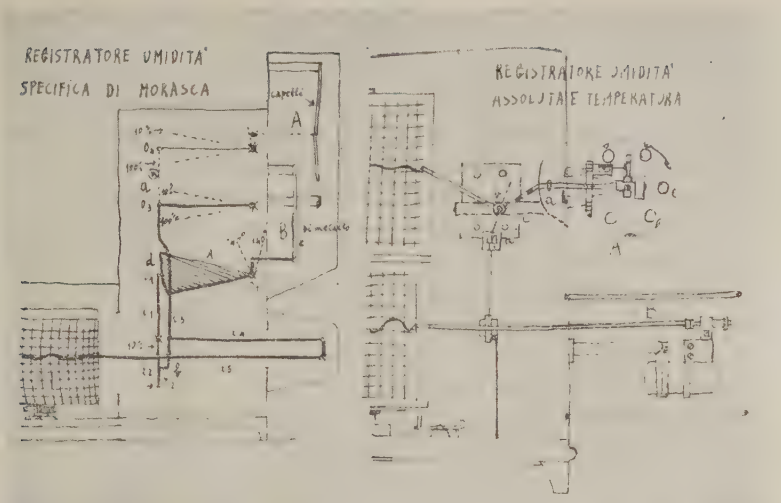


FIG. 4. – Registratore di umidità specifica del Morasca. A destra: un apparecchio che segue lo stesso principio con qualche linea modificata. A e B sono i dispositivi registratori dell'umidità relativa e della temperatura; a, b, c, d dispositivi meccanici vari per trasformare la temperatura in variazioni proporzionali all'umidità specifica massima ed il prodotto di tali spostamenti per l'umidità relativa.

È evidente che in tale dispositivo si possa ottenere (con l'aggiunta di determinati bracci con pennini) la registrazione dell'umidità relativa, oltre che dell'umidità assoluta e della temperatura.

Ma potendosi sempre ottenere i valori dell'umidità relativa e della temperatura con i soliti termoigrografi già in commercio, si pone a noi il problema più importante di ottenere invece immediatamente e graficamente le perturbazioni e variazioni dalla media delle temperature, cioè le escursioni dalla media delle temperature in ogni istante. Una volta ricavate le medie giornaliere e mensili delle temperature di una località per un periodo minimo di dieci anni (da 10 a 25 anni generalmente) si può ottenere molto facilmente il nostro scopo. Così per esempio risultano per Bari da una elaborazione da me compiuta su dati di 26 anni (medie dal 1923 al 1950) le seguenti medie mensili:

	Gen.	Feb.	Mar.	Apr.	Mag.	Giu.	Lug.	Ago.	Sett.	Ott.	Nov.	Dic.	Medie
Massima	11,7	12,6	14,6	18,2	22,2	26,2	28,7	28,6	25,9	21,6	17,5	13,0	20,0
Minima	4,9	5,4	6,7	9,6	13,1	17,3	19,9	19,7	17,2	13,6	10,4	6,5	12,0
Media	8,3	9,0	10,7	13,9	17,6	21,7	24,3	24,1	21,6	17,6	13,9	9,7	16,0

Da tali dati si può fare una interpolazione (parabolica) ottenendosi delle medie quindicinali o decadali. Ad essi, fissata una data, corrispondono due valori (per es. a maggio 22,2 e 13,1) che possono assumersi come ampiezza massima di una sinusoide regolare. Queste variazioni sinusoidali giornaliere * che si debbono annullare dalle registrazioni del termografo, si possono ottenere facilmente facendo sollevare ed abbassare il tamburo portadiagramma mediante lo stesso movimento di orologeria ad esso collegato che trasmetterebbe l'oscillazione con un eccentrico di forma opportuna (cioè $x^2 + y^2 = a\ y$, perchè dall'espressione sinusoidale $\rho = a \operatorname{sen} \varphi$ si ottiene mediante trasformazione polare

$$(x = \rho \cos \varphi = a \operatorname{sen} \varphi_2 \cos \varphi;\ y = \rho \operatorname{sen} \varphi = a \operatorname{sen} \varphi$$

da cui la precedente equazione citata).

Sul bordo di tale eccentrico dovrebbe poggiare, a mezzo di un coltello, l'estremità di una leva che imprimerebbe al tamburo t (e quindi al diagramma) un movimento verticale che si trasformerebbe nel tempo in un movimento sinusoidale; in tal modo sul diagramma verrebbe registrato solamente ogni oscillazione che si discosta dalle medie normali, con grande vantaggio per l'analisi dei diagrammi, come precedentemente accennato.

Per semplificazione, i due dispositivi potrebbero facilmente unirsi in un unico apparecchio, lasciando un solo tamburo con un adeguato sistema ad orologeria, trasformando il tamburo t poc'anzi accennato in un semplice supporto del diagramma e munendo la leva registratrice della temperatura di due pennini che poggerebbero, con particolare ac-

---

* Il fenomeno delle variazioni giornaliere della temperatura è periodico (giacchè in cicli giornalieri si riproduce quasi con lo stesso ordine e con eguale legge e misura; a tale fenomeno periodico giornaliero se ne sovrappone un altro periodico annuale. Per una data stazione (che abbia svolto servizio meteorologico per alcuni anni o in mancanza mediante formule di interpolazione) si dovrebbero calcolare le suddette due curve sinusoidali (dalle quali si ricaverebbero i valori per tarare il termografo accennato) mediante la formula di Bessel:

$$y = a_0 + a_1 \cos\left(\frac{x}{p} 2\pi\right) + b_1 \operatorname{sen}\left(\frac{x}{p} 2\pi\right) + a_2 \cos\left(\frac{2x}{p}\ 2\pi\right) +$$

$$+ b_2 \operatorname{sen}\left(\frac{2x}{p}\ 2\pi\right) + a_3 \cos\left(\frac{3x}{p}\ 2\pi\right) + b_3 \operatorname{sen}\left(\frac{3x}{p}\ 2\pi\right) + \ldots$$

dove gli a e b indicano le costanti che si determinano approfittando dei dati dell'osservazione. Si badi bene però che, nell'assegnare il tempo determinato da un dato valore x, conviene contarlo o, per un caso dal 1° febbraio (generalmente dal 15 gennaio) per Bari e dalle ore 5 per l'altro caso, oppure correggere la formula calcolata di un certo angolo da determinarsi. Inoltre dall'andamento giornaliero converrà trascurare la discontinuità che si verifica al tramonto e al sorgere del sole per la temperatura.

corgimenti, sulle due carte diagrammate collocate in parte opposte rispetto al piano centrale dell'apparecchio.

Per chiarire con un esempio l'interessante confronto tra i due tipi di grafici registrati per lo studio delle masse d'aria in rapporto alla temperatura, si analizza l'andamento della temperatura nel mese di maggio 1951 (dal 30 aprile al 5 giugno = 37 giorni) ottenuta a Foggia in una stazione meteorologica posta in pieno campo; i dati massimi e minimi con le relative escursioni sono i seguenti:

Data	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Mass.	23,9	20,0	21,8	22,0	24,2	23,9	22,6	24,2	21,6	17,9	19,0	21,0	
Min.	8,0	9,8	11,3	13,2	11,5	9,7	10,4	5,9	11,6	11,3	10,2	7,2	
Media	16,0	14,9	16,5	17,6	17,9	17,8	16,5	15,0	16,6	14,6	14,6	14,1	
Escurs.	15,9	10,2	10,5	8,8	12,7	14,2	12,2	18,3	10,0	6,6	8,8	13,8	
Data	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Mass.	19,9	17,9	21,0	20,0	20,3	19,2	20,9	20,6	19,3	22,0	26,2	26,7	
Min.	4,0	7,8	6,2	7,9	5,0	5,0	9,9	9,8	8,4	12,0	10,0	11,0	
Media	11,9	12,9	13,6	13,9	12,6	12,1	15,4	15,2	13,8	17,0	18,1	18,8	
Escurs.	15,9	10,1	14,8	12,1	15,3	14,2	11,0	10,8	10,9	10,0	16,2	15,7	
Data	24	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5
Mass.	29,0	29,8	30,0	30,1	29,7	29,2	30,1	29,0	30,0	27,6	27,6	25,0	21,4
Min.	11,0	11,9	11,9	12,9	10,2	15,5	13,0	14,2	13,8	12,2	9,9	9,9	14,0
Media	20,0	20,9	20,9	21,5	19,9	22,4	21,5	21,6	21,9	19,9	18,8	17,4	17,7
Escurs.	18,0	17,9	18,1	17,2	19,5	13,7	17,1	14,8	16,2	15,4	17,8	15,1	7,4

Sia i precedenti dati che i relativi grafici ottenuti dal termografo (vedi fig. 5, parte superiore) non ci dànno, sebbene si tratti di un periodo di tempo molto breve, un evidente e chiaro andamento del fenomeno se non dopo un attento e prolungato esame fatto da competenti e che logicamente riesce alquanto fastidioso, specie se trattasi di lunghi periodi da analizzare. Dai grafici invece che possono ottenersi dal nuovo termografo, modificato come già è stato spiegato, si ricava immediatamente e semplicemente il reale andamento della temperatura (vedi fig. 5, parte inferiore), con l'eliminazione dell'alterna fase diurna e notturna del riscaldamento dell'aria, e l'inizio, durata e intensità calorifica delle successive masse d'aria sopraggiunte in una data zona che si considera. Da questi grafici * possiamo perciò ricavare facilmente la descrizione

* Nei due diagrammi della fig. 5 gli 8 grafici registrano il periodo di 36 giorni dal 30 aprile (ore 12) al 5 giugno (ore 12), cosicchè ogni grafico rappresenta il periodo di 9 giorni e precisamente il 1° dal 31 aprile al 9 maggio, il 2° dal 9 al 18 maggio, il 3° dal 18 al 27 maggio ed il 4° dal 27 maggio al 5 giugno. Le linee orizzontali indicate con 0 segnano le temperature medie.

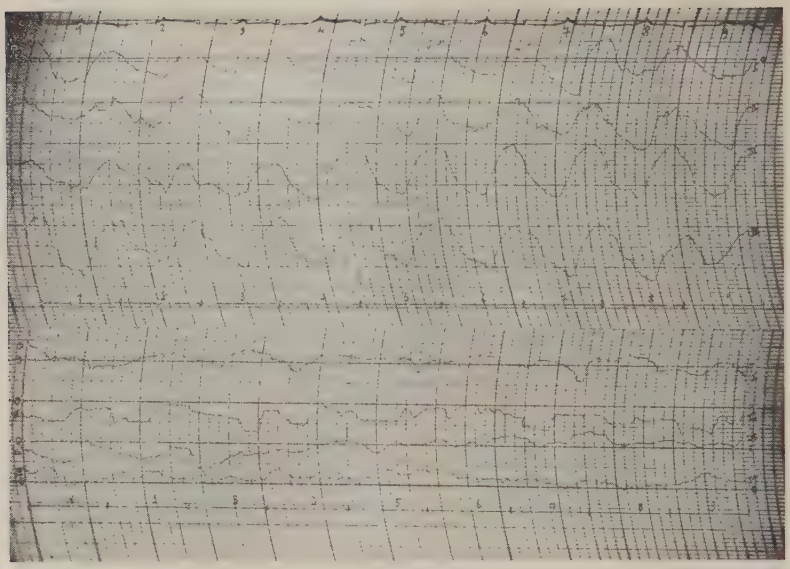


Fig. 5. – In alto: temperatura registrata dal 30 aprile al 5 giugno 1951, a Foggia; ogni grafico rappresenta 9 giorni. In basso: l'andamento della temperatura nello stesso periodo e nella stessa località, eliminata l'alterna fase diurna e notturna nel riscaldamento dell'aria.

dell'andamento: si nota, cioè, subito che i primi nove giorni sono stati piuttosto caldi con temperature superiori al normale con poche e brevi punte (la maggiore del 7 maggio) più fredde, che non potevano danneggiare alcuna coltura del campo; dal nono giorno considerato e fino al 21° (20-21 maggio) si hanno le più irregolari variazioni (per es. nei giorni 12 e 16) con masse di aria sempre fredde ed alquanto al di sotto del normale (grafico II e quasi metà del III della fig. 5); di poi (dal 22 maggio) l'aria va scaldandosi velocemente fino al giorno 27 (2ª metà del grafico III) ottenendosi in pochi giorni un aumento eccezionale di circa 10° C. nella temperatura media diurna (arrecando qualche danno ad alcune specie vegetali) e si mantiene calda e superiore al normale in tutto il grafico IV della fig. 5, dove si nota un andamento piuttosto regolare con l'eccezione di un minimo freddo del giorno 28 compensato dalla temperatura elevata (compreso il minimo) del giorno successivo che ci porta l'ambiente all'equilibrio caldo e degli sbalzi di temperatura negli ultimi quattro giorni.

2. — Ricerche sull'umidità e la temperatura nel terreno

L'umidità del terreno è stata classificata fisiologicamente in 1) una parte che viene utilizzata per la crescita vegetativa delle piante; 2) una parte che può essere usata da certe piante per mantenere la vita sotto condizioni di basso turgore, ed infine 3) una parte completamente inutilizzata dalle piante. Furr e Reeve (1945) definiscono lo stato d'umidità che praticamente porta alla fine della crescita vegetativa (cioè coefficiente di appassimento che è quasi eguale al coefficiente igroscopico) quello corrispondente al primo definitivo punto per l'avvizzimento delle piante in fiore e l'appassimento permanente delle foglie basali. Per ogni utile scopo perciò questo limite designa il punto nel quale il suolo deve essere immancabilmente irrigato se si vuole giungere al raccolto e non alla sostanza secca (fieno).

L'acqua nel terreno si può dividere in acqua igroscopica, capillare e gravitazionale: la prima non viene assorbita dalla vegetazione e da essa si può calcolare l'acqua micellare ed il coefficiente igroscopico; dalla seconda si può ricavare sia l'umidità ottimale che il coefficiente di appassimento delle piante; dalla terza si può ottenere la capacità idrica massima. Nella comune capacità dei campi (umidità massima contenuta in equilibrio con le forze di gravità) la tensione di aspirazione dell'umidità del suolo va da un decimo ad una atmosfera nella maggior parte dei terreni pugliesi (in media un po' meno di mezza atmosfera), e quando l'acqua viene presa dal suolo, la forza totale dell'umidità sale secondo una curva iperbolica; la forza d'aspirazione dell'acqua per le radici si aggira intorno a 10 atmosfere.

Ma qui si passa in un ramo di studî speciali se si vuole particolarmente esprimere tale aspetto, giacchè per questi complessi fenomeni fisico-biologici entrano in gioco specifiche strutture molecolari, forze chimiche (idratazione, mobilità di ioni) e fisiche (coesione, osmosi, adesione, concentrazione, diffusione, penetrazione, ecc.) in parte da alcuni specialisti chiarite; per questi motivi non si trova diretta relazione tra la percentuale di acqua presente nel terreno e la quantità che può essere utilizzata dalle piante ed una medesima percentuale di umidità può fare appassire o essere superflua per le piante a seconda che trattasi di terreno sabbioso o argilloso, o di porosità intermedia (meglio è lavorato il terreno e maggiore è l'umidità da esso trattenuta).

Cerchiamo pertanto di esporre qualche approssimata e generale argomentazione tratta dalle ricerche in corso. Un primo spunto ci è dato dal calcolo delle riserve idriche del suolo a varie profondità ed in rela-

zione anche alle precipitazioni avvenute. Calcolando l'umidità del suolo, in esso si distinguono facilmente tre strati: uno superficiale da 0 a circa 12 centimetri; un altro da 13 a 40, ed infine il terzo da 41 centimetri a oltre un metro. Il primo strato è sensibilissimo (con forti oscillazioni tra l'umidità massima e minima, come risulta anche da osservazioni compiute per un anno a Perugia da Briccoli) alle piogge, ai venti, alla sofficità del terreno, alle colture piantate, ecc. ed è quello dove avvengono i fenomeni principali di imbibizione, evaporazione, percolazione, capillarità, ecc.; negli altri due strati si hanno variazioni meno sensibili. Tali variazioni poi dipendono anche dai periodi di tempo, se cioè durante l'epoca di piovosità intensa o intermittente (autunno-inverno in Puglia) o durante l'epoca di siccità totale o parziale (primavera-estate); durante il periodo invernale-primaverile di massima umidità del terreno anche gli altri due strati più profondi, essendo impregnati di alta umidità, risentono facilmente dell'andamento stagionale delle piogge, restando però sempre corto l'intervallo di oscillazione; nel periodo estivo-autunnale gli ultimi due strati hanno variazioni minime e piuttosto regolari secondo una determinabile regressione, mentre il superiore assume diversi valori di umidità (a seconda delle condizioni atmosferiche) e può superare o essere inferiore in umidità agli strati sottostanti.

Il valore massimo di umidità calcolato non supera il 35 %, il minimo non scende al di sotto del 5 % in terreno coltivabile.

Considerando i valori medî, da osservazioni compiute a Bari, e tralasciando il periodo invernale nel quale può interessare l'eccesso di umidità per limitati e determinati terreni, si è ottenuto (per Bari) un'umidità media per terreni discretamente lavorati in febbraio del 19,24 % per il primo strato, del 19,75 % per il secondo strato e del 20,13 % per il terzo strato; in marzo i tre valori sono stati leggermente più alti del 20 %; in aprile a seguito di saltuarie osservazioni risulta l'umidità del primo strato superiore del 4 % circa agli altri due, cioè oltre ad un rapido decrescere dell'umidità in tutti e tre gli strati si è osservato, nel primo strato superiore, una media del 18,28 % circa e negli strati inferiori del 14,30 %. Da questo mese conviene praticamente considerare la sezione del terreno divisa in due strati, uno superficiale fino a 20 cm. circa e l'altro inferiore fino a un metro; in questo stesso mese si è avuta poi l'inversione della percentuale di umidità tra i due strati, che cambierà di volta in volta senso a seconda del presentarsi delle precipitazioni. Le prime osservazioni (fino ai primi di luglio) per il periodo estivo sono quelle che più interessano, e da esse risulta che l'umidità si abbassa in tutti e due gli strati (da 0 a 1 metro) scendendo dal 19 % circa ad una punta estrema di media del

10 % circa per il primo strato e dal 17 al 13 % circa per l'altro strato inferiore (media: 1° strato 11,4 %, 2° strato 14,5 % per la 1ª decade di luglio). Da questi dati però non possono trarsi considerazioni generali trattandosi di una sola stagione e di un determinato tipo di terreno.

Per quanto riguarda l'evaporazione si è già constatato che essa * nel periodo diurno sarebbe circa tre volte quella notturna, dipende dall'umidità dell'aria e, come ha trovato Pantanelli, in terra saturata per il 50 % della sua capacità idrica si ha una perdita d'acqua per evaporazione che può andare dal 0,1 al 6,6 % rispetto al peso della terra umida contenuta in uno strato di 10 cm. di spessore. Ma, anche in questo caso, conclusione più attendibile può darsi solo dopo più accurate e prolungate osservazioni. Del resto bisogna anche tener conto dell'estrema variabilità del terreno, della zona climatica considerata, delle pratiche colturali, delle esigenze delle colture, ecc. e quindi, più che una regola generale per tutto il complesso fenomeno, converrà considerare l'umidità, a tale scopo, per ogni singolo podere e per ogni epoca.

Per tale necessità, occorrerà indicare un apparecchio semplice registratore, di facile lettura, preciso e che segni la reale umidità del terreno, cioè l'andamento di quell'umidità insita nel terreno senza che esso venga variato nella sua struttura e condizione a causa della presenza dell'apparecchio. In Francia ed in America specialmente (per quanto ci è dato sapere) sono stati tentati diversi tipi, nessuno dei quali è entrato largamente in commercio, sebbene molti di essi abbiano dato ottimi risultati dal lato sperimentale. In Italia, qualora si voglia consigliare un metodo sicuro e pratico, rimane per ora sempre il procedimento vecchio e rozzo di prelevare in una maniera qualsiasi un dm^3 di terreno, di innaffiarlo lentamente ed uniformemente fino a che non ne assorba più oltre: un'ulteriore aggiunta di acqua (essendosi riempiti i meati della porosità) porterebbe alla formazione di uno strato superficiale del liquido. In tale operazione bisognerà considerare il tempo di penetrazione, perchè l'acqua giunga alla superficie di fondo e la quantità di acqua assorbita in totale; il primo calcolo serve per determinare nell'adacquamento per l'irrigazione (per scorrimento o a pioggia, ecc.) la profondità alla quale conviene che

---

* Mentre si compone questo scritto sono in corso le ricerche sulla quantità di acqua d'evaporazione di alcune zone della Puglia. Per quanto riguarda la velocità d'evaporazione in aria tranquilla, secondo delicate determinazioni di alcuni autori, essa è di circa 1/5 maggiore di quella prevista dalla teoria della diffusione molecolare. Per quanto riguarda la percolazione ci rimettiamo al lavoro di Pantanelli («Ricerche su la percolazione dell'acqua nel terreno». *Annali della Sper. Agr.*, 1951, n. s., vol. V, num. 4) basato su esperienze compiute in Puglia.

giunga l'acqua a seconda delle colture; il secondo per determinare il quantitativo utile ed abbisognevole (m^3 per ettaro) per un dato terreno in una data epoca dell'anno, moltiplicando semplicemente il numero esprimente in cm^3 di acqua assorbita per 0,75 (coefficiente che per comodità ed in gran parte dei casi può arrotondarsi ad 1 e che ho dedotto dai terreni pugliesi, ma risulta anche, come buon valore medio, per una coltura a media esigenza e per terreno discretamente lavorato); è logico che la suddetta quantità da somministrare vale per tenere il terreno nelle giuste o ottimali condizioni d'umidità per un certo periodo; per questo, di tanto in tanto (al massimo una volta la settimana anche per i periodi di massima siccità e secchezza), occorre ripetere l'operazione (di controllo della umidità e dell'irrigazione), potendosi determinare così dalle variazioni dei valori ottenuti anche il miglior turno d'irrigazione.

È evidente che in tal modo non occorre adottare alcuna norma pratica per tenere conto della pioggia caduta tra un adattamento e l'altro. Non rientra nel compito di questo scritto esaltare l'importanza dell'irrigazione e in particolare di un buon adacquamento che possono portare, secondo dati sperimentali recenti, ad un aumento di produzione notevole (dal 15 % circa per l'orzo ad oltre il 250 % per il granoturco da foraggio).

Si ritiene utile accennare infine che, secondo ricerche degli ultimi anni, Mitscherlich ha mostrato che le esigenze di acqua delle piante seguono la stessa legge di sviluppo, e cioè esse sono elevate per le piante aventi corti periodi vegetativi e decrescono con l'aumentare della fornitura di sostanze nutrienti.

Riesce utile talvolta conoscere la penetrazione dell'acqua-piovana nel terreno, onde stabilire fino a che profondità l'umidità si è trasmessa e modificata nel campo. Da nostre osservazioni, compiute da marzo a giugno 1951 a Bari, risulta che nel Podere Balbiani in terreno mediamente lavorato la profondità va da 5 a 8 volte la quantità in millimetri di precipitazione; per lo stesso periodo a Torre Mascoli (Corato) da 5,5 a 7,5, a Foggia da 6,5 a 10,5, a Foggia (Quindicinella) da 5 a 9,5, a Loconia (Canosa) da 6 a 8,5 ed a S. Pietro in Lama (Lecce) da 5 a 9. Rispetto al terreno non arato, in quello arato la profondità dell'acqua raggiunta nel terreno risulta 1,5-2,0 volte maggiore.

Non si è potuto ancora calcolare il gradiente dell'umidità nei vari terreni nè i rapporti fra la stessa umidità e la tensione di vapore specialmente in relazione alla natura del terreno. L'acqua trattenuta dal terreno completamente secco risulta del 5 % circa per terreno sabbioso, del 30 % per terreno limoso, del 65 % per quello argilloso, e del 90 % circa per quello torboso.

Per quanto riguarda la temperatura, si sa che i suoi rapporti con l'umidità si riferiscono all'alta capacità termica dell'acqua (circa 5 volte degli elementi del suolo) che mantiene più fresco il terreno in concomitanza anche con il raffreddamento provocato per evaporazione; oltre all'acqua vi sono naturalmente altri fattori che influiscono sulla temperatura di un terreno come, per esempio, la costituzione chimica, l'esposizione, la latitudine, il clima, il colore del terreno, la conduttività termica, ecc.; ma il fattore più importante è quello estrinseco dovuto alla temperatura dell'aria che giunge però nel terreno, che oppone una certa inerzia termica, con lieve ritardo di fase e con tanto maggiore smorzamento quanto più bassa è la profondità considerata del terreno.

Da iniziali ricerche si sono ottenuti per Bari (Podere Balbiani ed in zona senza vegetazione) dei dati mensili medî della temperatura del terreno (confrontati con quelli dell'atmosfera), dei quali se ne riportano alcuni relativi al 1951:

		Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno
Massimo	Atmosfera	15,7	16,9	18,9	23,5	27,4
	15 cm. prof.	11,5	14,6	17,6	21,4	27,2
	100 cm. prof.	10,6	11,7	14,4	17,0	21,0
Minimo	Atmosfera	4,5	6,8	8,0	12,0	15,2
	15 cm. prof.	8,0	10,4	15,2	18,9	24,0
	100 cm. prof.	10,0	10,9	13,3	16,0	20,1

Come si rileva dal precedente prospetto l'escursione media si aggira per l'atmosfera intorno a 10°, a 15 cm. di profondità a circa 3,5° e a un metro di profondità ad appena un grado.

Gli effetti della temperatura del suolo si riversano sulla germinazione, sulla crescita delle piante e sulla diffusione delle malattie; è stato trovato che la zona favorevole della temperatura del suolo, a parità di altre condizioni favorevoli, va dal di sopra di 3,5° C. a 40° C., e che la zona ottimale per la crescita delle piante va da 14° C. a 17,5° C., e per l'attività dei batterî del suolo a oltre i 6° C.

3. — Altre considerazioni

È fin troppo evidente che le esatte informazioni sulle osservazioni e previsioni meteorologiche permettono l'applicazione di numerose ed

importanti pratiche per i lavori agricoli, per cui non conviene fare un'ampia esposizione; basta accennare che una razionale e progredita agricoltura — nel collegarsi ed adattarsi alle condizioni agrogeografiche e climatiche delle varie località, ai fini della maggiore e migliore produzione agricola — non può fare a meno della meteorologia, poichè tutte le piante — e di conseguenza il loro raccolto — risentono in ampia misura degli elementi meteorici e delle sue variazioni.

Appare chiaro che finora persistono molti difetti sul modo di condurre le ricerche bioclimatiche, e tra essi emergono la non metodicità e deficienza delle osservazioni e dei mezzi, le cognizioni superficiali e parziali di alcuni studiosi specialmente sotto l'aspetto agrario ed i criteri sperimentali e teorici con i quali vengono condotte le sperimentazioni. Per quest'ultimo fatto bisogna anche fare osservare che spesso manca chiarezza circa le interpretazioni di alcune deduzioni, senza tenere conto del fatto che alcuni risultati si adattano a quelle particolari ricerche dalle quali si ricavarono e non ad altre, ecc.; così, per citare uno tra i molti esempi, si constata qualche equivoco fra gli sperimentatori agrari, se cioè convenga dare più importanza ai valori medî o alle variazioni dei fattori meteorologici, specialmente della temperatura e dell'umidità, che sono quelli che più facilmente vengono considerati. È mia opinione pertanto che mentre le brusche variazioni di qualche fattore atmosferico possono interessare in un caso il genetista, che può affermare con qualche attendibilità che durante tali oscillazioni possono originarsi i cambiamenti delle varietà e sottovarietà che persistono se trovano in seguito l'ambiente adatto; contemporaneamente le costanti termiche, pluviometriche, igrometriche, ecc. possono interessare i sistematici nel considerare per esempio l'isolamento ecologico di alcune specie, il microclima, ecc.

Si raccomanda però, nel complesso, di considerare gli agenti climatici che influiscono sulle piante, specialmente la temperatura e l'umidità possibilmente nel suo insieme, poichè, tra l'altro, in natura il loro complesso determina nella superficie terrestre il dato ambiente o zona vegetale, dove si raccolgono associazioni di specie diverse di piante con eguali esigenze biologiche di fattori atmosferici.

È anche compito di questa Nota di richiamare l'attenzione sul fatto che non basta fare delle semplici osservazioni sulla temperatura e sull'umidità, ma che occorre analizzare al massimo i singoli fattori ed in tutti i modi possibili e sempre secondo le esigenze delle ricerche, tanto più che infiniti sono i modi di scrutare e di osservare tale fenomeno e ben poche le vie che portano a risultati utili e soddisfacenti. Tra questi

modi di condurre la ricerca lascia molto a desiderare il metodo delle regressioni e soprattutto delle correlazioni * che, pur non essendo di comune uso, talvolta può condurre a chiarire inaspettatamente alcuna specie di fenomeni, specialmente nei rapporti tra temperatura, umidità, produzione e selezione, che risultano inspiegabili altrimenti.

Per scomporre i risultati dei diagrammi ottenuti dagli apparecchi meteorologici nelle onde periodiche componenti, sono stati fatti recentemente diversi studî (molto vi ha contribuito il prof. Vercelli) e sono state mosse apprezzabili critiche che hanno reso più chiaro il problema e diffuso l'applicazione di tale metodo; per quanto riguarda però l'umidità e la temperatura, per se stanti, non si traggono apprezzabili vantaggi con l'analisi periodale ed armonica e per tale motivo si è tralasciato tale argomento che può solo dare un valido contributo quando vengano studiati invece gli andamenti delle spezzate indicanti i valori quantitativi delle produzioni nei diversi anni, i valori barometrici per le previsioni del tempo, ecc.

RIASSUNTO

È esposta l'importanza delle osservazioni meteorologiche dell'umidità e della temperatura, specialmente dal punto di vista agrario, in Puglia.

Si fa cenno degli studî intrapresi e delle ricerche iniziate in diverse località pugliesi in rapporto ai suddetti due fattori, agenti nell'atmosfera e nel terreno, e dell'andamento bioclimatico; si riportano i primi dati con alcune deduzioni e qualche provvisoria conclusione sugli esperimenti che avranno, con molta probabilità, seguito.

Alla succinta ma multiforme parte sperimentale del lavoro sono aggiunte qualche norma pratica, annotazioni ed osservazioni generali utili.

---

* Un apparecchio fotoelettrico che, essendo atto al calcolo degli integrali doppi e di funzione, si presta per determinare facilmente e immediatamente il coefficiente di correlazione, viene illustrato da Carlo Bernasconi in *Geofisica pura ed applicata,* Milano, Ist. Geografico Ital., 1950, vol. XVII.

SUMMARY

STUDIES AND RESEARCHES ON HUMIDITY AND TEMPERATURE IN APULIA

by Salvatore Di Prima

The importance of the meteorological observations of the humidity and temperature in Apulia, especially from the agrarian point of view, is pointed out.

Mention is made of the studies undertaken and the researches initiated in various localities, in relation to the above-mentioned two factors, acting in the atmosphere and in the soil, and to the bioclimatic behaviour; the first data are reported with some deductions and some provisory conclusions on the experiments which, with great probability, will have followed.

To the succinct but multiform experimental parts of the work are added some practical rules, annotations and observations of general utility.

Ricevuto il 20 luglio 1951.

STAZIONE AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

E

STAZIONE SPERIMENTALE DI FRUTTICOLTURA
E DI AGRUMICOLTURA
(Direttore: Gaetano Ruggieri)
ACIREALE

V. Carrante e V. Bóttari

MIGLIORAMENTO GENETICO DEL LIMONE E RICERCA DI VARIETÀ RESISTENTI AL "MAL SECCO"

Premessa

La lotta contro il «mal secco» del limone, impostata e condotta da anni verso una duplice direzione, ossia attuando, da un canto, una serie di norme profilattiche e di lotta diretta e, dall'altro, diffondendo una varietà dimostratasi resistente (il limone « Monachello »), se ha dato e seguita a dare dei tangibili risultati di larga portata pratica, ha nondimeno dimostrato che non riesce a soddisfare appieno le esigenze della nostra limonicoltura.

Propriamente, se nel corso degli anni, l'integrale profilassi e la terapia chirurgica si son potute affermare presso molti agrumicoltori — i quali ne hanno tratto grandi vantaggi e seguitano a trarne nella difesa dei vecchi limoneti costituiti da varietà pregevoli ma recettive al mal secco — incontrano dei limiti in altri agrumicoltori meno attivi, indolenti o non cointeressati alla buona conservazione delle piante di limone. Per cui nei vecchi limoneti il « mal secco » seguita ad essere considerato come un pericolo immanente che spesso tiene gli agrumicoltori in istato di allarme, specialmente quando si verificano condizioni climatiche particolarmente avverse, quali le gelate ed i venti impetuosi che pongono le piante in condizioni di essere facilmente infettate dall'agente determinante il « mal secco », la *Deuterophoma tracheiphila* Petri.

Pertanto, è stata avvertita da tempo l'opportunità di combattere la malattia indirettamente con la diffusione di qualche varietà resistente.

Ora, da alcuni lustri è andata diffondendosi la varietà di limone « Monachello » che mostrò fin dal 1934 una elevata resistenza al « mal secco ». Nel corso degli anni però la coltivazione di questa varietà se, da un canto, ha assicurato ordinariamente un buon tornaconto economico, dall'altro ha dimostrato una scarsa plasticità di adattamento ai diversi indirizzi colturali ed ai più diversi ambienti naturali in cui si svolge la coltivazione del limone in Italia. Si è visto che la varietà « Monachello » stenta a generalizzarsi ovunque con convenienza e che, nell'ambito dell'industria dei derivati agrumari, risulta meno apprezzata delle vecchie varietà.

In definitiva, questa varietà non risolve appieno il problema della ricostituzione dei limoneti distrutti dal « mal secco ».

In considerazione di ciò è sorto il bisogno di chiedere l'ausilio alla genetica onde ottenere « qualche nuova varietà che possegga in sè una grande plasticità di adattamento ai più diversi ambienti fisici ed ai varii indirizzi tecnico-economici della nostra limonicoltura, ossia una varietà che oltre ad essere molto resistente al "mal secco" possegga la capacità di produrre, caso per caso — come succedeva per la pregevole varietà "Femminello" — o prevalentemente primifiori, o prevalentemente verdelli, o prevalentemente limoni comuni (adatti anche per l'industria dei derivati agrumari), oppure gli uni e gli altri in proporzioni varie a seconda delle condizioni ambientali e della volontà dell'agrumicoltore » (1, 2, 3,).

Piano di ibridazione

Si è dato inizio al lavoro di ibridazione nella primavera del 1945, ed al fine di utilizzare un più lungo periodo di fioritura e le più diverse varietà di limone esistenti nella zona, si è operato, oltre che nel ristretto podere sperimentale, anche nello agrumeto del Barone Musumeci in Santa Tecla ed in quello del dott. Saverio Continella in Giarre, negli agrumeti del signor Michele Romeo in Capo Molini e Cannizzaro ed ancora in altri del cav. Quattrocchi in Acicatena ed Aciplatani, avvalendoci dell'ospitalità e della collaborazione di questi appassionati agricoltori.

Su un totale di 5277 fiori ibridati 4634 sono stati utilizzati per incroci intervarietali di limoni e soltanto 643 destinati ad incroci del limone con specie diverse da esso sebbene, come vedremo in seguito, il numero delle piantine ottenute con gli incroci interspecifici risulterà superiore a quelle ottenute dagli incroci intervarietali.

Le varietà di limone impiegate nelle presenti ibridazioni sono state le seguenti:

1) Il « Femminello » comune o nostrale per i suoi pregi produttivi e qualitativi (alta produttività, spiccata attitudine alla produzione dei verdelli, elevato contenuto in succo, essenza ed acido citrico). Il carattere negativo, che è auspicabile venga eliminato, è la scarsa resistenza che questa varietà offre agli attacchi del « mal secco ».

2) Il « Monachello » per la sua elevata resistenza al « mal secco »: i caratteri negativi di questa varietà sono la scarsa resa in succo, in acidità ed in essenza, e il vigore che si è dimostrato inferiore a quello del « Femminello ».

3) Il « Quattrocchi » per la sua resistenza media al « mal secco » e per alcuni caratteri qualitativi (succo fortemente acido).

4) Il « Continella » per la resistenza media al « mal secco » e la caratteristica di dare abbondante produzione verdellifera, a grappoli.

5) Il « Cardinale » per la sua resistenza al « mal secco » e per la sua alta produzione di polline fertile *.

6) L'« Incappucciato », varietà pochissimo diffusa; sembra essere limitatamente resistente al « mal secco ».

7) Il « Lunario » per la sua tipicamente periodica rifioritura (localmente viene anche chiamato « Palermitano ») ed anche perchè sembra mostrare una certa resistenza al « mal secco ».

Inoltre le due più interessanti varietà, cioè il « Femminello » ed il « Monachello », sono state ibridate con le seguenti specie per la formazione di ibridi interspecifici, utili per molti aspetti:

1) con la limetta di Palestina (*Citrus aurantifolia* Swingle) per il suo vigore e la buona resistenza al marciume radicale ed al « mal secco »;

2) con il bergamotto (*C. bergamia* Risso), l'arancio dolce (*C. sinensis* Osbeck) ed il clementine (*C. reticulata* Blanco) per la buona resistenza al « mal secco »;

3) con il cedro (*C. medica* Linn.) ed il chinotto (*C. aurantium* var. *mirtifolia*).

Elenchiamo qui di seguito i vari tipi d'incroci effettuati, corredati dal numero dei fiori ibridati, dei frutti allegati e del relativo percento di allegazione.

---

* Del « Cardinale », quantunque incluso nella specie *C. limon*, non si conosce identità botanica.

				Fiori ibridati	Frutti allegati	% allegagione
1945						
« Femminello »	♀	×	« Monachello » ♂	76	20	25,5
« Monachello »	♀	×	« Femminello » ♂	95	6	6,3
« Femminello »	♀	×	bergamotto ♂	84	19	22,6
« Monachello »	♀	×	bergamotto ♂	41	1	2,4
1946						
« Femminello »	♀	×	« Monachello » ♂	521	141	27,0
« Monachello »	♀	×	« Femminello » ♂	1,026	142	13,8
« Continella »	♀	×	« Monachello » ♂	212	29	13,6
« Incappucciato »	♀	×	« Monachello » ♂	85	1	1,1
« Monachello »	♀	×	« Incappucciato » ♂	33	—	0,0
« Monachello »	♀	×	cedro ♂	50	—	0,0
« Monachello »	♀	×	chinotto ♂	67	10	14,9
« Monachello »	♀	×	limetta di Palestina ♂	71	39	54,9
« Femminello »	♀	×	limetta di Palestina ♂	103	78	75,7
« Femminello »	♀	×	clementine ♂	19	9	47,3
Arancio	♀	×	clementine ♂	50	1	2,0
Arancio	♀	×	limetta di Palestina ♂	20	—	0,0
Arancio	♀	×	« Monachello » ♂	46	1	2,1
« Monachello »	♀	×	arancio ♂	42	—	0,0
1947						
« Femminello »	♀	×	« Monachello » ♂	693	185	28,9
« Monachello »	♀	×	« Femminello » ♂	521	115	22,0
« Lunario »	♀	×	« Monachello » ♂	106	14	13,2
« Monachello »	♀	×	« Lunario » ♂	60	3	2,1
« Femminello »	♀	×	« Lunario » ♂	90	14	15,5
« Incappucciato »	♀	×	« Monachello » ♂	40	2	5,0
1948						
« Femminello »	♀	×	« Monachello » ♂	90	26	28,8
« Monachello »	♀	×	« Femminello » ♂	196	61	31,6
« Continella »	♀	×	« Monachello » ♂	113	14	12,3
« Monachello »	♀	×	« Continella » ♂	25	—	0,0
« Incappucciato »	♀	×	« Monachello » ♂	135	—	0,0
« Monachello »	♀	×	« Incappucciato » ♂	50	2 (senza semi)	
« Quattrocchi »	♀	×	« Monachello » ♂	185	44	22,7
« Monachello »	♀	×	« Lunario » ♂	120	39	32,5
« Monachello »	♀	×	« Cardinale » ♂	62	43	69,3
« Femminello »	♀	×	« Cardinale » ♂	50	38	76,6
« Quattrocchi »	♀	×	« Cardinale » ♂	50	32	64,0
« Monachello »	♀	×	bergamotto ♂	30	13	43,3

La tecnica d'ibridazione adottata è stata la seguente:

Scelte le varietà e contrassegnate le piante si prelevano da quelle destinate a funzionare da maschio un certo numero di fiori che sono sul punto di schiudersi ponendoli in termostato a temperatura di 15° C.

Il giorno seguente, essendo le antere già in antesi, possono essere utilizzate per l'impollinazione che viene compiuta sui fiori non ancora schiusi delle piante destinate a funzionare da madre, dopo aver liberati questi da petali e stami.

Per il buon risultato dell'impollinazione vengono scelti fiori pronti a subire l'impollinazione (presentanti secreto stimmatico).

Eseguita l'impollinazione i fiori vengono chiusi in sacchetti di carta oleata e così lasciati sino ad allegagione avvenuta.

Allegagione

Considerando i dati di allegagione trascritti nel precedente elenco sembra che, variando le combinazioni, esista un diverso grado di affinità tra varietà e varietà e fra una specie ed un'altra.

Tra gli incroci intervarietali hanno dato le più alte percentuali di allegagione quelli dove è stato usato il « Cardinale » come maschio, con il 76,6 % nel « Femminello », il 69,3 % nel « Monachello » ed il 64,0 % nel « Quattrocchi »; mentre le più basse si sono ottenute nell'incrocio « Monachello » ♀ × « Incappucciato » ♂ e viceversa con la sola produzione di qualche frutto senza seme. Il ripetersi di questa mancata allegagione per 3 anni di seguito fa sospettare ad un caso di incompatibilità.

Negli incroci « Monachello » × « Femminello », quando il « Femminello » ha funzionato da madre l'allegagione si è mantenuta tra il 25 ed il 29 %, mentre quando ha funzionato da padre l'allegagione è stata sensibilmente più bassa oscillando tra il 6 ed il 22 %, fatta eccezione per il 1948 anno in cui ha dato un'allegagione media di 31,6 % dovuta alla pianta n. 69 del podere sperimentale, dove si è raggiunto un percento di allegagione del 76,6.

Negli incroci interspecifici si è rilevata buona allegagione con il polline di limetta di Palestina (75,7 % su « Femminello », 54,9 % su « Monachello »), di clementine (47,3 % su « Femminello ») e di bergamotto (22,6 % su « Femminello » nel 1945 e 43,3 % su « Monachello » nel 1948). Allegagione zero si è ottenuta nel 1946 operando con polline di cedro ed arancio sopra il « Monachello », ma di ciò non abbiamo conferma, perchè detti incroci non furono più ripetuti negli anni seguenti.

L'allegagione è naturalmente influenzata dall'andamento climatico ed in particolare si è potuto notare che si ottengono risultati negativi se si

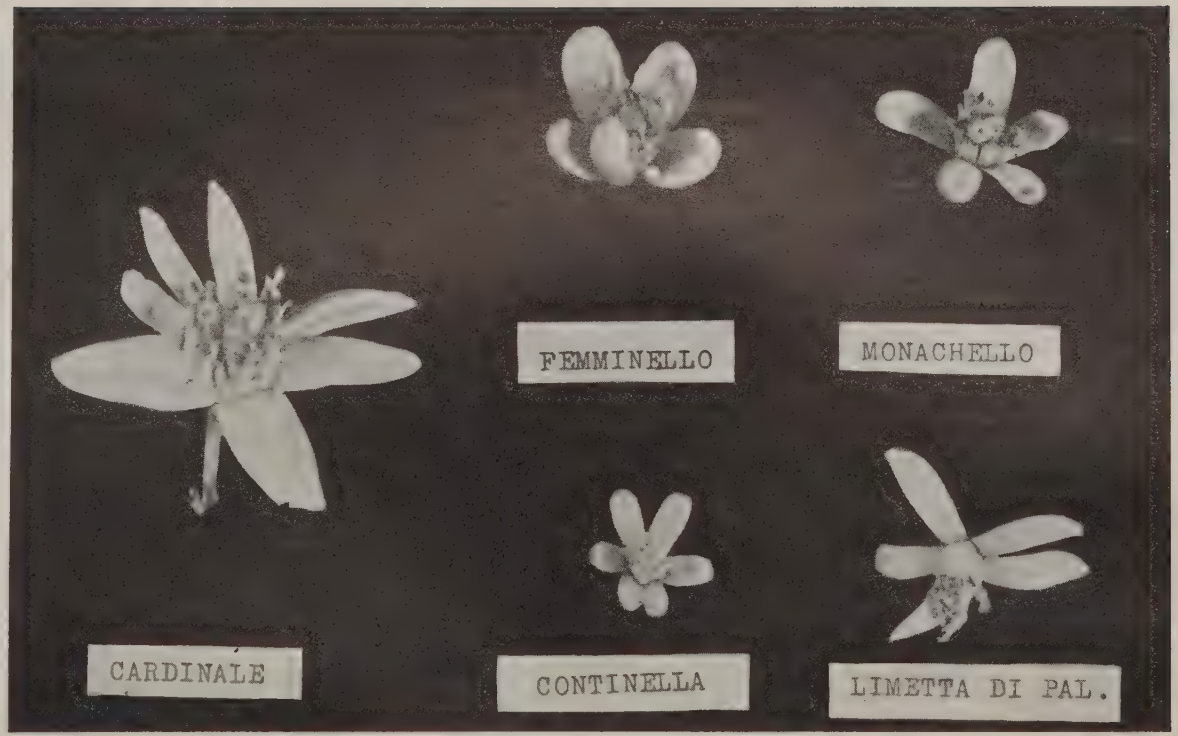


Fig. 1. – Fiori di alcune varietà usate nelle ibridazioni. Notare il colore bianchiccio delle antere della varietà « Continella » (grandezza naturale).

opera in giorni piovosi o molto umidi e sopra fiori che appartengono alla prima sporadica fioritura.

Una certa importanza ha pure la ricchezza e la vitalità del polline delle varietà adoperate come maschio.

Produzione eccezionale di polline, dànno i fiori di limone « Cardinale », abbondante quelli di limetta di Palestina, « Femminello » ed « Incappucciato », sufficiente quelli di « Monachello », « Lunario » e bergamotto, limitatissima quelli di « Quattrocchi » e « Continella », tanto da presentare antere di colore bianchiccio (fig. 1).

Raccolta ed estrazione dei semi

La raccolta dei frutti è stata effettuata a completa maturazione nel mese di gennaio e febbraio; nel marzo si è proceduto alla estrazione dei semi.

Il numero dei semi contenuto in un frutto varia in misura sensibile; sono stati infatti riscontrati frutti del tutto apireni ed altri con più di 20 semi a frutto:

	Frutti raccolti * n.	Semi ricavati n.	Numero medio di semi per frutto
1946			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	111	524	4,7
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	119	229	1,0
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	17	13	0,7
« Monachello » ♀ × chinotto ♂	10	19	1,9
« Monachello » ♀ × limetta di Palestina ♂	37	108	2,9
« Femminello » ♀ × limetta di Palestina ♂	78	900	11,5
« Femminello » ♀ × clementine ♂	8	32	4,0
1947			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	152	949	6,2
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	97	239	2,4
« Lunario » ♀ × « Monachello » ♂	9	13	1,4
« Femminello » ♀ × « Lunario » ♂	9	50	5,5
1948			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	19	134	7,0
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	48	172	3,5
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	12	31	2,5
« Monachello » ♀ × « Lunario » ♂	23	87	3,7
« Femminello » ♀ × « Cardinale » ♂	38	857	22,5
« Monachello » ♀ × « Cardinale » ♂	40	204	5,0
« Quattrocchi » ♀ × « Cardinale » ♂	29	311	10,7
« Monachello » ♀ × bergamotto ♂	10	24	2,4
« Quattrocchi » ♀ × « Monachello » ♂	44	71	1,6

* La differenza tra frutti raccolti e frutti allegati del precedente prospetto è dovuta a cascola di natura parassitaria frutti « allupati » o ad asportazioni per cause diverse.

In linea di massima il « Femminello » ha presentato un numero medio di semi per frutto superiore a quello del « Monachello », del « Continella », del « Quattrocchi » e del « Lunario ».

Nelle ibridazioni « Femminello » ♀ × « Monachello » ♂ la media per frutto è risultata di 4,7 semi nel 1946, di 6,2 nel 1947 e di 7,0 nel 1948; in quelle di « Monachello » ♀ × « Femminello » ♂ risulta di 1,0 nel 1946, di 2,4 nel 1947 e di 3,5 nel 1948.

L'incremento più notevole della ricchezza in seme si riscontra nei frutti derivati da ibridazione con limone « Cardinale » ♂ e precisamente 5,0 nel « Monachello » ♀, 10,7 nel « Quattrocchi » ♀ e 22,5 nel « Femminello » ♀.

Semina e germinazione

La semina è stata effettuata sempre nella seconda decade di marzo interrando i semi in vasi di terracotta di forma rettangolare. Tutti i semi provenienti da una pianta e quindi appartenenti allo stesso incrocio sono stati seminati in un unico vaso o in più vasi quando il loro numero superava il centinaio.

Obbligati a questo tipo di semina comulativa, per la mancanza di un'adatta attrezzatura che potesse permettere la semina isolata, cioè di un seme per vaso, non è stato possibile controllare esattamente il comportamento di ciascuna varietà nei riguardi della poliembrionia.

In semi estratti da frutti di « Femminello » è stato osservato lo sviluppo da un unico seme anche di tre piantine.

Di conseguenza le percentuali calcolate in base al numero delle piantine ottenute rispetto ai semi interrati non ci dànno le reali percentuali di germinazione, poichè vengono influenzate dalla maggiore o minore predisposizione alla poliembrionia di ciascuna varietà (4).

Comunque si riportano i dati ottenuti nel seguente prospetto:

1946	Semi interrati n.	Piantine ottenute n.	%
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	524	456	87,0
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	229	124	54,1
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	13	12	92,3
« Monachello » ♀ × chinotto ♂	19	8	42,1
« Monachello » ♀ × limetta ♂	108	88	81,4
« Femminello » ♀ × limetta ♂	900	879	97,6
« Femminello » ♀ × clementine ♂	32	32	100,0

	Semi interrati n.	Piantine ottenute n.	%
1947			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	949	239	25,1
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	239	65	27,1
« Lunario » ♀ × « Monachello » ♂	13	3	23,0
« Femminello » ♀ × « Lunario » ♂	50	9	18,0
1948			
« Femminello » ♀ × « Cardinale » ♂	857	498	58,1
« Monachello » ♀ × « Cardinale » ♂	204	62	30,5
« Quattrocchi » ♀ × « Cardinale » ♂	311	155	49,8
« Quattrocchi » ♀ × « Monachello » ♂	71	18	25,6
« Monachello » ♀ × bergamotto ♂	24	18	75,0
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	31	25	80,6
« Monachello » ♀ × « Lunario » ♂	87	25	28,7
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	134	53	39,5
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	172	24	13,9

I semi di « Monachello » hanno dato una più bassa percentuale di piantine di quelli di « Femminello » fatta eccezione di quelli ottenuti dall'incrocio con limetta di Palestina (81,4 %) e con il bergamotto (75,0 %).

Il percento di piantine ottenute nel 1947 è sensibilmente inferiore a quello degli altri anni, a causa di un grave attacco di ragno rosso (*Tetranychus telarius*) che si verificò all'inizio della germinazione quando erano state emesse le prime due foglioline. Nonostante ripetuti trattamenti con insetticidi diversi, i danni dovuti a defogliazione e conseguente morte delle giovanissime piantine furono sensibili.

Trapianto

Il trapianto dai vasi in piena terra, con sesto di cm. 40 × 30, viene effettuato nello stesso anno della germinazione e precisamente nella seconda decade di giugno, quando le giovani piantine hanno emesso le prime quattro foglie, al fine di accelerare il loro sviluppo.

Dalle misurazioni periodicamente effettuate sugli ibridi del 1946 risulta come a distanza di soli 15 mesi dal trapianto e a 19 dalla semina le piante raggiungano altezze variabili da cm. 50 e 100 offrendo la possibilità di poter prelevare gemme per l'innesto su piante adulte di melangolo.

Sviluppo medio degli ibridi 1946, ricavato dalla misurazione in cm. della massima altezza di ciascuna piantina a partire dal colletto

Ibridazione	30-X-1947		30-III-1948		30-X-1940	
	Ibridi n.	Sviluppo medio	Ibridi n.	Sviluppo medio	Ibridi n.	Sviluppo medio
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	315	23,0	269	31,3	249	116,0
« Femminello » ♀ × clementina ♂	20	18,9	13	22,3	12	84,2
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	66	11,5	54	16,5	43	49,5
« Monachello » ♀ × limetta di Palestina ♂	73	14,6	68	21,0	65	59,9
« Femminello » ♀ × limetta di Palestina ♂	507	23,2	482	30,7	471	99,8
« Monachello » ♀ × chinotto * ♂	2	7,0	2	9,0	2	12,0
« Continella » ♀ × « Monachello » * ♂	9	6,2	8	10,3	7	27,2

Si mette inoltre in evidenza come le piantine di « Femminello » ♀ siano esse derivate da impollinazione con « Monachello » ♂, clementine ♂ o limetta di Palestina ♂ raggiungono uno sviluppo superiore a quelle derivate da « Monachello » ♀. Ciò potrebbe attribuirsi alla maggiore percentuale di progenie apogamica che, come vedremo in seguito si ottiene dal « Femminello » e che in generale è formata da soggetti più vigorosi dei veri ibridi.

Dalla concimazione dei piantonai si è dovuto escludere la somministrazione di sostanza organica, limitandosi alla sola concimazione chimica, consistente principalmente in nitrato di calcio e solfato ammonico. Ciò ad evitare maggiori danni per marciume radicale e del colletto, presentando le piantine da seme di limone un'alta recettività alla *Phytophthora*. Difatti nonostante si sia cercato di prevenire con somministrazioni primaverili ed autunnali di polvere Caffaro le infezioni di marciume, nel primo anno di vita un certo numero di piantine ne sono state ugualmente colpite ed eliminate.

---

* Gli ibridi « Monachello » ♀ × chinotto ♀ e « Continella » ♀ × « Monachello » ♂ sebbene fossero stati seminati contemporaneamente a tutti gli altri, germinarono con un ritardo di tre mesi e furono quindi trapiantati in vivaio 90 giorni più tardi, precisamente il 10-X-1947.

Percento di mortalità entro un anno del trapianto per marciume e crisi di trapianto

	Trapiantati il 15-VI 1947	Morti per marciume e crisi trapianto sino al giugno 1948	% mortalità
1946			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	330	81	24,5
« Femminello » ♀ × clementine ♂	20	8	40,0
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	87	44	50,5
« Monachello » ♀ × limetta ♂	78	13	16,6
« Femminello » ♀ × limetta ♂	517	46	8,8
« Monachello » ♀ × chinotto ♂	4	2	50,0
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	9	2	22,2
	Trapiantati il 15-VI-1948	**Morti per marciume e crisi trapianto entro giugno 1949**	**% mortalità**
1947			
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	239	138	57,7
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	65	50	76,9
« Lunario » ♀ × « Monachello » ♂	3	2	66,6
« Femminello » ♀ × « Lunario » ♂	9	9	100,0
	Trapiantati il 15-VI-1949	**Morti per marciume e crisi trapianto entro giugno 1950**	**% mortalità**
1948			
« Femminello » ♀ × « Cardinale » ♂	498	159	31,9
« Monachello » ♀ × « Cardinale » ♂	65	50	76,9
« Quattrocchi » ♀ × « Cardinale » ♂	155	84	54,1
« Quattrocchi » ♀ × « Monachello » ♂	18	14	77,7
« Monachello » ♀ × bergamotto ♂	18	10	55,5
« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	25	12	48,0
« Monachello » ♀ × « Lunario » ♂	25	16	64,0
« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	53	16	30,1
« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	24	9	37,5
Totale	2839	732	25,7

Dal precedente prospetto si rileva come la percentuale di mortalità nel primo anno di vita in piantonaio si aggira intorno al 25 % di cui circa il 5 % è da attribuirsi a crisi di trapianto ed il rimanente ad infezione di *Phytophthora*.

Sono da ricordare le alte percentuali di mortalità avutesi sugli ibridi 1947 in seguito ad una somministrazione di concime organico e la più

elevata resistenza dimostrata dalle piantine derivate dall'incrocio con limetta. Se ne deduce pertanto che il carattere « buona resistenza al marciume » della limetta * venga trasmesso alla progenie ibrida di « Monachello » e « Femminello » incrociata con limetta e lascia sperare che da detti incroci possa in un secondo tempo selezionarsi qualche buon portinnesto resistente al marciume ed al « mal secco ». Requisito indispensabile per considerare pregevole qualsiasi portinnesto e la facoltà di fornire elevata percentuale di discendenza apogamica.

Dati e considerazioni sulla poliembrionia dei *Citrus*

Il fenomeno che complica il normale svolgimento delle ibridazioni nei *Citrus* è la facoltà che questi hanno di originare in un solo seme più embrioni di cui uno sessuale e gli altri di natura apogamica.

Gli embrioni apogamici che nei *Citrus* si formano da cellule della nucella (embrionia nucellare), trovandosi generalmente avvantaggiati nello sviluppo, prendono il sopravvento su quello sessuale e lo costringono talvolta a soccombere (5).

Le piantine da seme che si sviluppano dagli embrioni nucellari si presentano di gran vigore e con gli identici caratteri della pianta madre, salvo casi di mutazione degli embrioni medesimi (6, 7).

Non tutte le varietà di *Citrus* manifestano lo stesso grado di poliembrionia ed anche il tipo di incrocio può avere la sua influenza.

Pertanto, è stato compilato il prospetto I ripartendo in base alla osservazione dei caratteri morfologici tutte le piantine ottenute nelle ibridazioni del 1946, 1947 e 1948 in quattro categorie:

1) con evidenti caratteri di ibrido;

2) con evidenti caratteri di embrione nucellare, cioè con caratteri morfologici identici alla varietà che ha funzionato da madre;

3) con caratteri incerti: in questa categoria vengono incluse quelle piante che presentando caratteri non ben definiti lasciano qualche dubbio sulla loro origine **; bisogna tener presente che la percentuale di que-

---

* Da semine di limetta nel 1947 sono state ottenute vigorose piantine che, nonostante laute somministrazioni di spazzature, hanno dimostrato completa resistenza al marciume; questo vale per i terreni lavici che si presentano sciolti e di buona permeabilità.

** Dette piante vengono man mano sottoposte alla reazione dei colori di Halma ed Haas (8). Con tale metodo, recentemente provato presso questa Stazione dai dottori F. Russo e M. Torrisi (9), è possibile identificare la natura ibrida o nucellare delle piantine.

Percentuali di progenie ibrida e nucellare ottenute in base all'osservazione dei caratteri morfologici

Anno della ibridazione	Varietà o specie ibridate	Piantine con caratteri morfologici di ibrido		Piantine con caratteri morfologici di embrione nucellare		Piantine con caratteri morfologici non ben definiti		Tetraploidi n.	Triploidi n.	Poliploidi %	Totale n.
		n.	%	n.	%	n.	%				
1946	« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	57	23,3	165	69,0	17	7,1	—	—	—	239
	« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	18	58,0	6	19,3	7	22,5	—	—	—	31
	« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	1	14,2	3	42,8	3	42,8	—	—	—	7
	« Femminello » ♀ × clementine ♂	13	72,2	4	23,2	—	0,0	1	—	5,5	18
	« Monachello » ♀ × limetta ♂	39	66,1	16	27,1	1	1,6	2	1	5,0	59
	« Femminello » ♀ × limetta ♂	112	22,9	246	50,3	129	26,3	2	—	0,4	489
1947	« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	19	20,8	58	63,7	7	7,6	7	—	7,7	91
	« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	8	57,1	4	28,5	2	14,2	—	—	0,0	14
1948	« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	20	54,0	10	27,0	7	19,0	—	—	0,0	37
	« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	9	60,0	6	40,0	—	0,0	—	—	0,0	15
	« Monachello » ♀ × « Lunario » ♂	7	77,7	2	33,3	—	0,0	—	—	0,0	9
	« Continella » ♀ × « Monachello » ♂	7	53,8	3	23,0	3	23,0	—	—	0,0	13
	« Quattrocchi » ♀ × « Monachello » ♂	4	100,0	—	0,0	—	0,0	—	—	0,0	4
	« Quattrocchi » ♀ × « Cardinale » ♂	70	98,6	—	0,0	1	1,4	—	—	0,0	71
	« Femminello » ♀ × « Cardinale » ♂	184	54,2	119	35,2	33	9,8	1	2	0,8	339
	« Monachello » ♀ × « Cardinale » ♂	43	95,5	1	2,2	—	0,0	—	1	2,2	45
	« Monachello » ♀ × bergamotto ♂	6	75,0	2	25,0	—	0,0	—	—	0,0	8
	Totali . . .	617	—	645	—	210	—	13	4	—	1489
	Medie . . .	—	41,4	—	43,3	—	14,1	—	—	1,1	—

sta categoria potrebbe venire a sommarsi sia a quella degli ibridi che a quella degli embrioni nucellari;

4) soggetti poliploidi, cioè a corredo cromosomico triploide o tetraploide; dette piante sono state individuate e definite tali dai dottori F. Russo e M. Torrisi, che li hanno distinti in allo ed autopoliploidi (9).

I caratteri delle varietà usate negli incroci che hanno servito per l'identificazione della natura ibrida o nucellare delle piantine da seme sono attualmente, mancando frutti e fiori, limitati ai seguenti:

1) portamento: molto assurgente nelle piantine nucellari di « Femminello » ed espanso in quelle di « Monachello » (figg. 2 e 3);

2) il colore dei giovani germogli: violaceo nei limoni, paglino nella limetta e nel clementine; violaceo, paglino e di colore intermedio, negli ibridi (fig. 4);

3) colore della corteccia e consistenza: verde paglino nella limetta, verde chiaro nel « Monachello », verde intenso nel « Femminello »; più tenera nel « Monachello », più consistente nel « Femminello »;

4) spinosità: spine forti e lunghe, spesso con qualche gemma foglifera nella limetta e negli ibridi con limetta;

5) aroma delle foglie: tipico per ogni specie (limone, limetta, clementine, ecc.);

6) forma della foglia: larga nel « Cardinale », ovata e a cucchiaio nella limetta, lanceolata nel clementine;

7) ondulazione della lamina fogliare: non ondulata nella limetta, nel clementine e nel limone « Quattrocchi », poco ondulata nel « Cardinale » e nel « Femminello », doppiamente ondulata nel « Monachello »;

8) margine fogliare: seghettato in maniera più o meno serrata e in qualche caso crenato;

9) picciolo: non alettato, lievemente alettato o fortemente alettato;

10) colore della lamina fogliare: verde intenso, verde pallido;

11) ghiandole di olio essenziale delle foglie: negli ibridi con limetta si presentano più visibili e rilevate, ma non è carattere costante.

Dei caratteri passati in rassegna non sembra ve ne sia qualcuno nettamente dominante. I caratteri « colore paglino dei giovani germogli » e « aroma di limetta » si riscontrano con molta frequenza nella progenie ibrida di ♀ « Femminello » × limetta ♂ e di ♀ « Monachello » × limetta ♂, ma sono stati anche individuati soggetti, che pur dovendo considerarsi dai caratteri della foglia di origine ibrida, presentano giovani germogli di colore violaceo e aroma di limone. Altri ibridi presentano colore intermedio di varia gradazione. Lo stesso può dirsi per tutti gli altri caratteri: in qualche ibrido domina un carattere materno, in qualche

Fig. 2. – Piantina nucellare di «Monachello» (ridotta di 9/10).
Notare il portamento espanso.

FIG. 3. – Piantina nucellare di « Femminello » (ridotta di 9/10). Notare il portamento assurgente ed il rametto laterale, infetto di « mal secco ».

FIG. 4. – Giovane germoglio di color verde paglino dell'ibrido 46–332 « Monachello » ♀ × limetta di Palestina ♂ ed altro di colore violaceo dell'ibrido 47-53 « Femminello » ♀ × « Monachello » ♂ (grandezza naturale).

Fig. 5. – Foglia di limone « Femminello », altra di clementine e rametto ibrido n. 46–244 « Femminello » ♀ × Clementine ♂ con foglie che non somigliano ad alcuno dei genitori (ridotto di 1/2).

altro un carattere paterno, in altri, caratteri intermedi o del tutto differenti da quelli paterni o materni (fig. 5).

Osservando il precedente prospetto, pur tenendo presente che esso non ci dà rigorosamente la percentuale di progenie apogamica di ciascuna varietà, a causa della mortalità delle piantine che si ha nel primo anno di vita quando non è ancora possibile riconoscere con l'esame morfologico la loro origine sessuale o nucellare, è utile rilevare quanto segue:

1) nel 1946 e 1947 si ottiene una più alta percentuale di piantine nucellari dalle ibridazioni, dove il « Femminello » ha funzionato da madre, fatta eccezione dell'incrocio con clementine ♂, rispetto a quelle dove ha funzionato da madre il « Monachello »;

2) nelle ibridazioni 1948, in genere, si ottiene una più bassa percentuale piantine di origine nucellare, e particolarmente si sono messi in evidenza i diversi incroci con « Cardinale » ♂ che ha incrementato sensibilmente la produzione di soggetti ibridi (specie sul « Monachello »). Ciò farebbe pensare che gli embrioni sessuali derivanti dall'incrocio con « Cardinale » siano più vigorosi di quelli apogamici delle varietà usate nell'incrocio;

3) la varietà « Quattrocchi » sembra comportarsi come monoembrionica (98,6 e 100 % di piantine ibride).

Prime osservazioni sulla resistenza al « mal secco »

Dato il fine che si propone il presente piano di ibridazione, il carattere che, in primo luogo, interessa stabilire per ciascuna piantina ottenuta, sia essa ibrido o di origine nucellare, è naturalmente il comportamento nei riguardi della resistenza al « mal secco ».

Sarebbe stato quindi logico ed opportuno iniziare la prima selezione — intesa nel senso di eliminare tutti quei soggetti che non rispondono ai requisiti cercati — proprio con osservazioni sulla resistenza al mal

secco. E se, all'inizio, per determinare in maniera rapida tale carattere si era pensato di ricorrere a prove di inoculazione diretta del parassita nel tessuto legnoso dei giovani soggetti, si è preferito infine stabilire il grado di resistenza della *Deuterophoma trachciphila* Petri, esaminando il loro comportamento di fronte alle infezioni naturali. Si conviene che questo secondo sistema comporta un periodo di tempo più lungo e maggior lavoro per poter giungere ad una prima e generale selezione, ma ha influito sulla nostra decisione il differente modo di reagire del limone « Monachello » di fronte alla infezione naturale od artificiale del parassita.

Pertanto, mantenendo nei vivai delle piante da seme o nelle immediate vicinanze focolai di infezioni rappresentati da piante o parti di esse infette, ed effettuando periodiche regolari osservazioni alla fine delle due stagioni particolarmente favorevoli allo sviluppo di infezioni di « mal secco », primavera ed autunno, ci è stato possibile, alla fine del 1950, compilare il prospetto II, dove si può già intravedere il diverso comportamento di alcuni gruppi di ibridi ed embrioni nucellari ottenuti con le impollinazioni del 1946-47.

Non sono riportati nel prospetto gli ibridi 1948 non essendosi in essi osservato alcun attacco di « mal secco ». I primi dati relativi a queste piante si potranno ottenere alla fine del 1951, giacchè è ormai assodato che le infezioni naturali cominciano a manifestarsi generalmente dopo il secondo anno di vivaio, quando le piante hanno raggiunto un certo sviluppo.

La maggior parte delle piante fortemente colpite dal « mal secco », dopo essere state regolarmente registrate, vengono eliminate, lasciandone qualcuna che possa fungere da focolaio di infezione per le rimanenti piantine.

Considerando i dati del prospetto si nota senz'altro come la percentuale media più elevata di piante colpite si trova in quelle di origine nucellare, nate da seme di « Femminello » (15,6 %), mentre nelle piantine nucellari provenienti da « Monachello » ♀ la percentuale di piante colpite si riduce a zero.

Si osserva inoltre che nelle piantine ibride di « Femminello » ♀ il numero di piante colpite da « mal secco » diminuisce sensibilmente (media 46-47 dell'1,4 %) rispetto a quelle di origine nucellare sempre di « Femminello » ♀ (15,6 %), facendo supporre che il carattere « resistenza » al « mal secco » del « Monachello », della limetta e del clementine, venga, con alte probabilità, trasmesso alla progenie ibrida.

Per le piante ottenute da « Monachello » ♀, il percento di piante colpite, si mantiene, almeno sino a questo momento, zero anche per la progenie ibrida.

Prospetto II

Anno della ibridazione	Varietà o specie ibridate	Piantine con aspetto di ibrido			Piantine con aspetto di embrione nucellare			Piantine con caratteri non ben definiti			Tetraploidi	Triploidi	Poliploidi colpiti da « mal secco »		Totale		
		in vivaio n.	colpiti da « mal secco »		in vivaio n.	colpiti da « mal secco »		in vivaio n.	colpiti da « mal secco »						In vivaio n.	Colpiti da « mal secco »	
			n.	%		n.	%		n.	%	n.	n.	n.	%		n.	%
1946	« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	57	—	0,0	165	33	20,0	17	3	17,6	—	—	—	—	239	36	15,0
	« Femminello » ♀ × clementine ♂	13	—	0,0	4	1	25,0	—	—	—	1	—	—	0,0	18	1	5,5
	« Femminello » ♀ × limetta ♂	112	2	1,7	240	28	11,3	129	5	3,8	2	—	—	0,0	489	35	7,2
	« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	18	—	0,0	6	—	0,0	7	—	0,0	—	—	—	—	31	—	0,0
	« Monachello » ♀ × limetta ♂	39	—	0,0	16	—	0,0	1	—	0,0	2	1	—	0,0	59	—	0,0
	Continella ♀ × « Monachello » ♂	1	—	0,0	3	—	0,0	3	—	0,0	—	—	—	—	7	—	0,0
1947	« Femminello » ♀ × « Monachello » ♂	19	1	5,2	58	12	20,6	7	—	0,0	7	—	—	0,0	91	13	14,3
	« Monachello » ♀ × « Femminello » ♂	8	—	0,0	4	—	0,0	2	—	0,0	—	—	—	—	14	—	0,0
	Totale con « Femminello » ♀	201	3	1,4	473	74	15,6	153	8	5,2	10	—	—	0,0	837	85	10,1
	» con « Monachello » ♀	65	—	0,0	26	—	0,0	10	—	0,0	2	1	—	0,0	104	—	0,0
		269	3	1,1	502	74	14,7	166	8	4,8	12	1	—	0,0	948	85	—

* I presenti dati si riferiscono alle infezioni naturali di « mal secco » osservate entro l'autunno 1950.

Le cifre su riportate, sebbene non ci diano delle differenze notevoli, perchè limitate al primo anno di infezioni naturali, sono molto significative e si prevede che alla fine del presente anno si potranno ottenere valori elevati e decisivi.

È pertanto utile trarre le seguenti considerazioni:

1) dalla progenie ibrida in genere non sembra difficile ottenere soggetti con marcata resistenza al « mal secco », purchè uno dei genitori possieda detto carattere;

2) dalla progenie nucellare di varietà resistente al « mal secco » (es.: « Monachello ») si prevede ottenere soggetti che oltre ad essere per natura resistenti possano presentare vigore vegetativo e produttivo superiore alla varietà da cui derivano (10, 11);

3) dalla progenie nucellare di varietà recettive al « mal secco » (es.: « Femminello »), le probabilità di ottenere piante resistenti è ridotta al minimo essendo limitata ad eventuali casi di mutazione degli embrioni nucellari nei riguardi di questo carattere.

In definitiva la maggiore attenzione deve essere rivolta ai veri ibridi ed alle piante nucellari di limone « Monachello ».

Innesto

Appena è stato possibile prelevare le gemme si è ricorso all'innesto su melangolo, allo scopo di accelerare l'entrata in produzione (innestando su piante adulte), ma anche e principalmente ad evitare che soggetti, i quali potrebbero risultare interessanti sotto altri aspetti, in particolare resistenza al « mal secco », vadano perduti per infezioni di *Phytophthora*. Difatti se le infezioni naturali di « mal secco » coadiuvano la nostra opera nella selezione di soggetti resistenti, lo stesso non può affermarsi per quanto riguarda gli attacchi di marciume.

La difficoltà più grave incontrata nell'attuazione delle operazioni d'innesto è stata la presenza di spine nella maggior parte delle piantine da seme al punto da non trovare in molte di esse una sola gemma che fosse libera da spine (fig. 6). Soltanto l'1 % circa delle piantine da seme è risultato quasi del tutto privo di spine.

Si è ovviato all'inconveniente con il sistema a corona, in uso per gli agrumi nel Salernitano che si è adottato per l'innesto di un appezzamento di piante adulte e con il metodo a gemma semilegnoso, col quale si asporta assieme alla gemma anche quella parte di legno che sostiene la spina, adottato per l'innesto dei giovani melangoli.

Altro inconveniente del tutto diverso dal precedente è la ristrettezza del campo sperimentale e la mancata disponibilità di un grande numero di piante adulte da poter sacrificare destinandole a servire come portinnesti.

Questa esiguità di spazio oltre a ritardare di molti anni i risultati conclusivi che potrebbero trarsi dal presente lavoro, ha contribuito ridurre e limitare il piano generale di ibridazione.

Fig. 6. — Rametto spinoso del n. 46–265 « Monachello » ♀ × « Femminello » ♂ (ridotto di 2/3).

All'inizio, si è seguito il criterio di innestare un solo melangolo per ogni pianta da seme ibrida o nucellare, man mano che questa permetteva il prelievo di gemme atte all'innesto.

Dall'anno in corso, si comincia a reinnestare quei melangoli già innestati con piante da seme dimostratesi ormai recettive al « mal secco », utilizzandoli per altri non ancora innestati su melangolo, o per ripetere innesti di soggetti che offrono maggiore affidamento.

Agli innesti sono stati destinati vari appezzamenti, in massima parte (*B, C, D, E, F, G, H, I, L*) formati da giovani melangoli disposti a sesto

di m. 2,50 × 2,50 ed uno (*A*) costituito da piante adulte di arancio dolce su arancio amaro con sesto di m. 4 × 4.

Lo sviluppo raggiunto in un solo anno dagli ibridi innestati su piante adulte (appezzamento *A*) è stato veramente soddisfacente, anche per taluni soggetti che derivano da piante da seme che in vivaio mostravano scarso vigore vegetativo e limitato sviluppo, e si ritiene di ottenere la prima fruttificazione entro il 1952.

Per gli ibridi innestati su giovani melangoli negli appezzamenti *B, C, D, E, F, G, H, I, L,* lo sviluppo è soddisfacente, ma logicamente l'entrata in produzione avverrà con un certo ritardo rispetto a quello dell'appezzamento *A,* a prescindere dall'anno in cui è stato eseguito l'innesto.

RIASSUNTO

Ricordato brevemente lo stato attuale delle ricerche per la soluzione del problema di lotta contro il « mal secco » degli agrumi (*Deuterophoma trachciphila* Petri) ed esposte le ragioni che hanno sorretto gli AA. nella decisione di impostare il problema anche dal punto di vista genetico, si riferisce sui lavori di ibridazione intrapresi nel 1945 e proseguiti sino al 1948 presso la Stazione di Frutticoltura e di Agrumicoltura di Acireale.

La comunicazione sulle varietà prese in esame, il numero dei fiori ibridati, le combinazioni effettuate e le piantine ottenute viene corredata da osservazioni sullo sviluppo e sulla individuazione della progenie ibrida e nucellare delle piantine medesime.

Infine, si dà notizia sul diverso grado di resistenza al « mal secco » dimostrata da vari gruppi di fronte alle infezioni naturali, traendone le prime orientative conclusioni.

SUMMARY

GENETIC IMPROVEMENT OF THE LEMON TREE AND RESEARCH ON VARIETIES RESISTENT TO 'MAL SECCO' DISEASE

by V. Carrante and V. Bóttari

Having briefly recorded the present state of the researches for the control of the 'mal secco' disease of citrus (*Deuterophoma tracheiphila* Petri) and having given the reasons which have upheld the authors in the

decision to study the problem from the genetic point of view also, an account is given of the researches on hybridization undertaken in 1945 and carried on until 1948 at the Stazione di Frutticoltura e di Agrumicoltura, Acireale.

The data on the varieties examined, the number of hybridized flowers, the combinations effected and the seedlings obtained are followed by observations on the development and the individuation of the hybrid and nucellar progeny of the same seedlings.

Finally, findings are given on the diverse degrees of resistence 'mal secco' demonstrated by different groups against natural infections, and the first orientative conclusions are drawn.

BIBLIOGRAFIA

(1) Petri, L. Lo stato attuale delle ricerche sul mal secco dei limoni. *Boll. Staz. Patol. Veg.*, Roma, 1930, n. s., anno X.

(2) Ruggieri, G. Fattori che condizionano o contribuiscono allo sviluppo del mal secco degli agrumi e metodi di lotta contro il medesimo. *Ann. Sper. Agr.*, 1948, n. s., vol. II.

(3) Ruggieri, G. Difesa e ricostituzione degli agrumeti colpiti dal «mal secco». *Actes 1er Congr. Intern. de l'Agrumic. Méditer.*, Palerme, juin 1949.

(4) Frost, H. B. Polyembryony, heterozygosis and chimeras in citrus. *Hilgardia*, 1926, I, 365-402.

(5) Frost, H. B. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In Webber and Batchelor, Citrus Industry. Berkeley and Los Angeles, University of California Press, 1946, Vol. I, Chapter VIII.

(6) Ruggieri, G. Le applicazioni della genetica in agrumicoltura. *Nuovi Annali dell'Agric.*, Roma, 1938, vol. XVIII.

(7) Frost, H. B. Four new citrus varieties, the Kara, Kinnow and Wilking mandarins and Trovita orange. *California Sta. Bull. 597*, 1935.

(8) Furr, J. R., and Reece, P. C. Identification of hybrid and nucellar citrus seedling by a modification of the rootstock color test. *Proc. Am. Soc. Hort. Sc.*, 1941, XLVIII, 141-146.

(9) Russo, F., e Torrisi, M. Il poliploidismo nei *Citrus*. Autopoliploidi ed allopoliploidi. *Ann. Sper. Agr.*, 1951, n. s., vol. V.

(10) Russo, F., e Torrisi, M. Il miglioramento delle nostre varietà di agrumi per selezione di forme derivate da embrioni nucellari. *Ann. Sper. Agr.*, 1951, n. s., vol. V.

(11) Frost, H. B. Nucellar embryony and juvenile characters in clonal varieties of citrus. *Journ. Heredity*, 1938, XXIX, 423-432.

Ricevuto il 23 luglio 1951.

ISTITUTO DI CHIMICA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Carlo Ferrari)
BOLOGNA

Pietro Gelli

DETERMINAZIONE FOTOMETRICA DEL TITOLO DEI CONCIMI FOSFATICI *

Un approfondito studio sulla formazione e sul comportamento in soluzione dell'acido fosfo-molibdico e, soprattutto, i chiarimenti portati per via spettrofotometrica alla conoscenza del cosiddetto « bleu di molibdeno fosforato », hanno consentito di raggiungere un alto grado di perfezione nella determinazione fotometrica dell'acido fosforico (3). D'altra parte i moderni fotometri sono in grado di sfruttare in pieno la perfetta riproducibilità dei dati che la reazione cromatica, messa a punto, consente di ottenere e questo fatto ha importanza decisiva sulla sua adozione.

Le suddette ragioni hanno indotto a riprendere in esame il problema della determinazione fotometrica del titolo dei fertilizzanti fosfatici allo scopo di snellire i procedimenti, notoriamente lunghi e laboriosi, attualmente in uso presso quasi tutti i laboratori ufficiali (6).

Nella letteratura non mancano tentativi di applicare la ceruleo-molibdimetria all'analisi dei concimi: nel 1936 K. C. Scheel (8) l'ha sperimentata conseguendo risultati talmente soddisfacenti che, leggendo la sua Nota, vien fatto di domandarsi come mai il procedimento elaborato da questo autore non abbia incontrato il favore generale.

Usando come strumento di misura il fotometro di Pulfrich egli è riuscito a contenere l'errore « assoluto » entro il $\pm$ 0,6 %. Operando a freddo, ha usato come riducente il solfato di monometil-p-amidofenolo (Fotorex) in soluzione bisolfitica, proposto da E. Tschopp. Poichè, come verrà dimostrato più oltre, con questo riducente si ottengono colorazioni bleu del tutto simili a quelle che sono in grado di produrre riducenti come il reattivo di Fiske e Subbarow, l'acido ascorbico o il

* Lavoro eseguito mercè una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

solfato d'idrazina, quando vengano fatti agire a freddo, colorazioni che possiedono fondamentalmente la caratteristica di non mantenersi stabili con il passare del tempo, bisogna ammettere che la grande esattezza alla quale è pervenuto Scheel sia stata resa possibile dall'aver egli scrupolosamente mantenute costanti tutte le condizioni sperimentali che possono influire sulla formazione e sull'« assestamento » del colore, e cioè principalmente: la temperatura, l'acidità, il tempo di riposo dopo la mescolanza dei reagenti, la concentrazione della soluzione solforica di molibdato d'ammonio e il rapporto tra le quantità di acido e di molibdato, la concentrazione del riducente, il volume della soluzione in cui si effettua la riduzione, ecc.

Successivamente Popp e Westerhoff (7) hanno applicato la ceruleo-molibdimetria all'analisi dei fertilizzanti fosfatici impiegando due procedimenti ben distinti: nel primo usano come riducente il reattivo di Zinzadze, nel secondo operano secondo la tecnica proposta da Scheel.

Siccome il reattivo di Zinzadze viene usato a caldo, la colorazione bleu che si ottiene ha la curva di assorbimento definita e costante che corrisponde al bleu di molibdeno fosforato definitivamente « assestato »; questo fatto determina un notevolissimo incremento della sensibilità del metodo perchè, come è stato dimostrato (3), l'« assestamento » della curva di colore si concreta in un innalzamento generale di tutta la curva, che risulta molto più pronunciato in corrispondenza delle maggiori lunghezze d'onda. Popp e Westerhoff hanno ritenuto poco conveniente questo procedimento in quanto l'errore medio può superare il $\pm$ 0,6 %. Non accennano alle interferenze che manifesta il ferro, nella forma ferrica, sulla reazione, nè si preoccupano del fatto che il reattivo di Zinzadze sia di non comoda preparazione. Essi hanno deciso di abbandonare il procedimento secondo Zinzadze soprattutto per il fatto che la grande sensibilità della reazione impone una diluizione che essi ritengono eccessiva, dovendosi operare su quantità di P_2O_5 inferiori al milligrammo.

Proprio per evitare questa grande diluizione, Popp e Westerhoff hanno sperimentato il procedimento proposto da Scheel: i risultati che hanno conseguito si scostano però fino a circa il 0,5 % dal dato ponderale. Quattro prove effettuate sullo stesso concime, con le stesse modalità, hanno dato i seguenti risultati: 18,15-18,55-18,00-18,15 % di P_2O_5 mentre il dato ponderale era 18,11 %: dunque la media dei quattro risultati colorimetrici rientra nell'errore ammesso di $\pm$ 0,3 %, ma un solo dato non è sufficiente potendo causare, come in questo caso, un

errore del 0,44 %. Degna di particolare attenzione è la mancata riproducibilità dei dati colorimetrici che si ottengono quando si operi sullo stesso campione.

Malgrado i risultati, per lo meno molto incoraggianti, ai quali erano pervenuti tanto Scheel che Popp e Westerhoff, dal 1937 ad oggi non risulta che il metodo colorimetrico sia stato adottato in alcun laboratorio per la determinazione del titolo dei fertilizzanti fosfatici. In una recente raccolta (5) di metodi analitici dei fertilizzanti, Gericke ricorda il lavoro di Popp e Westerhoff ed esprime l'opinione che il procedimento colorimetrico non sia consigliabile in quanto conduce a risultati che possono scostarsi troppo da quelli che si ottengono per via ponderale (in media 0,65 % di P_2O_5). Riguardo al procedimento proposto da Scheel, Gericke richiama la necessità di rispettare rigorosamente le condizioni sperimentali fissate e consiglia l'uso di soluzioni di titolo noto con le quali si possa controllare la curva concentrazione/estinzione. Malgrado ciò egli riporta la conclusione di Popp e Westerhoff che determinazioni eseguite su scorie Thomas con il procedimento di Scheel dànno spesso differenze troppo grandi rispetto a quelle eseguite per via ponderale.

Le cause di errore insite nei procedimenti proposti da Scheel e da Popp e Westerhoff sono spiegabili, ed anche evitabili, alla luce dei chiarimenti portati alla conoscenza del « bleu di molibdeno fosforato » dal recente studio di Ferrari (3) al quale si è già accennato.

Come ha dimostrato questo autore, per ottenere risultati esatti con la reazione del « bleu di molibdeno fosforato » occorre: 1) operare con riducenti che siano in grado di originare una colorazione bleu che possieda una curva di assorbimento definita e costante; 2) ottenere l'« assestamento » definitivo di questa curva.

La prima condizione è soddisfatta quando si impieghi uno qualunque dei riducenti in grado di agire su una sola delle due « forme » nelle quali l'acido fosfo-molibdico sarebbe presente in soluzione, e cioè sulla sola forma gialla. Da questo punto di vista si equivalgono riducenti come il reattivo di Fiske e Subbarow, l'acido ascorbico, il solfato di idrazina, il reattivo di Zinzadze e quello di Tschopp, utilizzato da Scheel, come verrà dimostrato più avanti.

Per soddisfare la seconda condizione — ottenere cioè l'« assestamento » definitivo della curva di colore — è opportuno operare a caldo, alla temperatura del bagno-maria bollente.

Parte sperimentale

Per dimostrare che le colorazioni bleu che si ottengono facendo agire — a freddo — il reattivo di E. Tschopp (soluzione bisolfitica di Fotorex) sull'acido fosfo-molibdico sono analoghe a quelle che si formano quando si impieghino — pure a freddo — riducenti come il reattivo di Fiske e Subbarow, l'acido ascorbico e l'idrazina, e come invece operando a caldo si produca il bleu di molibdeno fosforato con curva di colore definitivamente « assestata », si è operato come segue:

una soluzione contenente una quantità di fosfato monopotassico pari a 0,25 mg di P_2O_5, convenientemente diluita con acqua, è stata addizionata di 5 cc del reattivo Fotorex e di 10 cc del reattivo molibdico prescritti da Scheel: dopo 10 minuti di riposo la soluzione bleu ottenuta è stata portata al volume di 100 cc (prova n. 1). Una seconda prova, preparata in modo identico, dopo i 10 minuti di riposo, è stata addizionata di 20 cc della soluzione di acetato sodico prescritta da Scheel, e si è quindi diluito a 100 cc (prova n. 2). Una terza è stata preparata aggiungendo alla quantità di fosfato monopotassico, pari a 0,25 mg di P_2O_5, il reattivo molibdico proposto da Ferrari invece di quello proposto da Scheel, per evitare che il riscaldamento provocasse la formazione del cosiddetto « bleu di molibdeno puro »*, che falserebbe ogni risultato. Alla prova n. 3, diluita con acqua a circa 60-70 cc, sono stati quindi aggiunti 5 cc del reattivo Fotorex, 4 cc di H_2SO_4 8 N e 5 cc di una soluzione all'1,44 % di molibdato d'ammonio, pari a 60 mg di MoO_3. Si è scaldato per 30 minuti su bagno-maria bollente, e dopo raffreddamento, si è portato con acqua a 100 cc. Nel diagramma sono riportate le curve di colore ottenute in base alle misure fotometriche eseguite sulle prove n. 1 e n. 2 dopo 2 minuti, dopo 10 minuti, dopo 30 minuti e dopo 2 ore dalla preparazione e sulla prova n. 3 (quest'ultima curva si mantiene inalterata nel tempo). Come strumento di misura si è impiegato lo Spettrofotometro Universale di Coleman, mod. 14.

Si vede che, analogamente a quanto Ferrari ha dimostrato avvenire quando si impieghino a freddo riducenti come il reattivo di Fiske e Subbarow, l'acido ascorbico o il solfato d'idrazina, la soluzione bisolfitica di Fotorex produce una colorazione bleu che non si mantiene stabile col passare del tempo.

Le curve 1, 1', 1'', 1''', sono infatti sensibilmente diverse: il loro andamento e la relativa lentezza con la quale si manifesta la variazione,

---

* Il reattivo molibdico proposto da Scheel contiene infatti 50 g di molibdato d'ammonio e 500 cc di H_2SO_4 10 N in un litro. In ogni prova si debbono impiegare 10 cc di questo reattivo, cioè 500 mg di molibdato d'ammonio e una quantità di acido solforico pari a 50 cc di H_2SO_4 N. Il rapporto tra le quantità di molibdato e di acido solforico è tale che può formarsi il « bleu di molibdeno puro », come è stato dimostrato da Ferrari (2). Mentre a freddo la formazione di questo bleu richiede parecchie ore, a caldo esso compare immediatamente.

che è soprattutto quantitativa, mostrano una grande analogia tra l'azione del reattivo Fotorex e quella del riducente di Fiske e Subbarow.

Le curve 2, 2', 2", 2"', mostrano che l'aggiunta di acetato sodico, che secondo Scheel dovrebbe interrompere la riduzione, rende più manifeste le differenze, soprattutto quantitative, tra le estinzioni misurate dopo tempi crescenti dalla preparazione. Lo stesso Scheel del resto aveva rilevato che l'aggiunta della soluzione di acetato determina un cambiamento del tono di colore e un certo incupimento del colore stesso, fenomeno quest'ultimo che Scheel ha attribuito ipoteticamente a un cambiamento del « grado di dispersione » del bleu di molibdeno. Appare invece più probabile che l'intensificazione del colore sia dovuta alla formazione di un po' del cosiddetto « bleu di molibdeno puro ». Infatti due prove eseguite in assenza di acido fosforico, una addizionata dei 20 cc di acetato sodico e l'altra no, si sono comportate in modo nettamente diverso: mentre la seconda, anche dopo 30 minuti dalla preparazione appariva incolora, la prima era già sensibilmente azzurra dopo 5 minuti, e la colorazione aumentava notevolmente col passare del tempo.

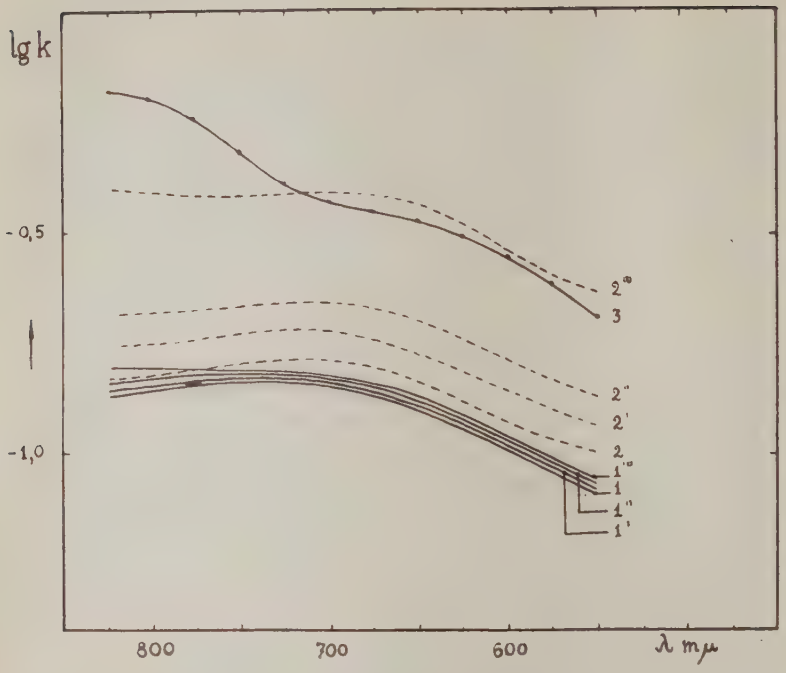
La curva n. 3, che si riferisce alla prova ottenuta a caldo, si identifica con quella delle prove preparate, pure a caldo, coi riducenti tipo reattivo di Fiske e Subbarow, acido ascorbico e solfato d'idrazina (3).

Questa curva rappresenta il « bleu di molibdeno fosforato » definitivamente « assestato », il solo utilizzabile ai fini quantitativi.

Queste prove dimostrano che la reazione condotta secondo le prescrizioni di Scheel è quanto mai delicata e conferma quanto è stato detto nella parte introduttiva: i buoni risultati ottenuti da Scheel si possono spiegare soltanto ammettendo che egli abbia osservato scrupolosamente tutta una serie di prescrizioni tecniche, anche di dettaglio, la non assoluta osservanza delle quali può aver provocato le incertezze rilevate da Popp e Westerhoff.

Si spiegherebbe così l'indifferenza dimostrata dai ricercatori verso un procedimento che, in base ai risultati denunciati dall'autore, avrebbe meritato ben diversa considerazione.

I risultati delle esperienze riportati nel diagramma confermano altresì la necessità di ottenere — mediante riscaldamento su bagno-maria — l'« assestamento » definitivo della curva di colore del bleu di molibdeno fosforato, il quale deve venire prodotto con un riducente che sia in grado di reagire soltanto sulla forma gialla dell'acido fosfo-molibdico, mentre per produrre l'acido fosfo-molibdico stesso si deve impiegare un reattivo molibdico in cui il rapporto tra le quantità di molibdato d'ammonio e di acido solforico sia tale da consentire la formazione quantitativa di questo etero-poli-acido e da escludere ogni interferenza dovuta alla formazione del « bleu di molibdeno puro », quando venga fatto agire il riducente.



A questi requisiti fondamentali corrispondono perfettamente i reattivi che Ferrari ha proposto per il dosamento ceruleo-molibdimetrico fino dal 1936 (1). Essi sono:

1) Reattivo molibdico: soluzione di molibdato d'ammonio contenente g 14,4 del sale in un litro. Ogni cc di questa soluzione contiene una quantità di molibdato d'ammonio pari a 12 mg di MoO_3. Quando si debbano dosare quantità di P_2O_5 inferiori al mg, si devono usare in ogni prova 5 cc di questa soluzione, pari a 60 mg di MoO_3.

2) H_2SO_4 8 N: per la detta quantità di molibdato si devono usare da 3 a 7 cc di H_2SO_4 8 N (pari a 25-50 cc di H_2SO_4 N), onde impedire la formazione del «bleu di molibdeno puro»: questo composto si forma invece quando la quantità di H_2SO_4 N sia compresa tra 1 e 24 cc, mentre al di sopra di 50-60 cc si determinerebbe una demolizione del complesso fosfo-molibdico, che può anche divenire completa, come ha dimostrato Ferrari (3).

3) Riducente: soluzione di solfato d'idrazina all'1 %. Normalmente è sufficiente impiegare 1 cc di questa soluzione. Si dovrà aumentare questo volume soltanto nel caso in cui siano presenti quantità eccezionalmente elevate di sali ferrici.

Il modo di operare è semplicissimo: alla soluzione in esame, contenente una quantità di P_2O_5 inferiore al mg, posta in una bevuta da 250 cc, diluita con acqua a circa 70-80 cc, si aggiungono 4 cc di H_2SO_4 8 N, 5 cc della soluzione di molibdato e 1 cc della soluzione

riducente. Si pone la bevuta su bagno-maria bollente per 30 minuti e, dopo raffreddamento, si porta al volume di 100 cc in pallone tarato.

La colorazione bleu che si ottiene operando in questo modo è stabile per moltissime ore.

Applicazione del procedimento alla determinazione del titolo dei concimi fosfatici

Non si vuole qui discutere i procedimenti che si devono seguire, secondo i metodi ufficiali, per portare in soluzione i fosfati in base alla loro solubilità nei diversi solventi (acqua, citrato ammonico, acido citrico, ecc.).

Basti ricordare che, nel caso dei perfosfati, secondo il metodo ufficiale italiano, si deve operare in modo da avere in 250 cc di soluzione acquosa tutto il fosfato monocalcico contenuto in 5 g del concime. Supposto un titolo del 20 % di P_2O_5 solubile in acqua, la soluzione conterrebbe perciò 4 mg di P_2O_5 per cc.

Poichè l'esperienza ha dimostrato che in ogni prova conviene operare nell'intervallo da 0,1 a 0,5 mg di P_2O_5 è quindi necessario diluire: si è trovato opportuno farlo nel rapporto 1 : 100 per poter eseguire la reazione cromatica su 10 cc della soluzione così diluita, che corrispondono a mg 2 di concime. Per ottenere la percentuale di P_2O_5 in esso contenuto si dovrà quindi moltiplicare il risultato, espresso in mg di P_2O_5, per 50 (nel caso in cui si sia operato su 10 cc della soluzione diluita) ovvero, in generale, riferire a 100 il risultato.

Eseguendo la reazione cromatica con 10 cc della soluzione diluita impiegando lo Spettrofotometro Universale di Coleman, mod. 14, è possibile determinare tenori di P_2O_5 varianti dal 5 al 25 % utilizzando una vaschetta dello spessore di 1 cm, che è consigliabile sia sempre la medesima: le escursioni dell'indice del galvanometro rientrano, per i limiti anzi detti e per la lunghezza d'onda di 650 m μ, nella zona della scala in cui le indicazioni sono più esatte *.

---

* La lettura della trasparenza va fatta con la massima precisione, avendo cura che lo strumento sia a regime e che lo 0 e il 100 della trasparenza siano perfettamente regolati. È consigliabile usare vaschette a faccie piano-parallele, operare alla lunghezza d'onda di 650 m μ, col filtro 14-215 e impiegare acqua distillata come liquido di confronto.

Sia la scala lineare che la ruota potenziometrica dello Spettrofotometro Universale di Coleman portano divisioni in unità.

La lettura deve essere tuttavia spinta al decimo di unità, il che si ottiene facilmente a stima e rappresenta una esattezza reale in quanto la sensibilità e la precisione dell'apparecchio effettivamente lo consentono, come è dimostrato dalla perfetta riproducibilità dei dati.

Risultati ugualmente buoni si possono ottenere impiegando qualsiasi altro tipo di fotometro che sia in grado di consentire misure di trasparenza di corrispondente precisione, per esempio il Fotometro di Pulfrich.

Quando si voglia il dato comprendente anche la P_2O_5 presente sotto forma di fosfato bicalcico, solubile in citrato ammonico, si opera analogamente, lisciviando con questo reattivo il residuo dell'estrazione con acqua, come prescrive il metodo ufficiale, e portando al volume di 250 cc. Anche questa soluzione dovrà venire diluita 100 volte, ad esempio prelevandone 10 cc, aggiungendoli ai 10 cc della frazione acquosa e portando il tutto al volume di un litro.

Nel caso delle scorie Thomas si seguono pure le prescrizioni del metodo ufficiale per ciò che riguarda le modalità per portare in soluzione il fosfato, dopo di che si procede operando le diluizioni opportune.

Allo scopo di costruire la curva concentrazione/estinzione specifica * nell'intervallo di concentrazione che interessa è stata preparata una soluzione di fosfato monopotassico, puro e secco, contenente in 250 cc grammi 1,9173 del sale, pari a g 1 di P_2O_5. Questa soluzione ha quindi la stessa concentrazione (mg 4 di P_2O_5 per cc) della soluzione che si otterrebbe lisciviando, secondo il metodo ufficiale, 5 g di perfosfato al 20 % di P_2O_5 solubile: essa è stata diluita 100 volte.

Mediante buretta di precisione sono quindi stati prelevati volumi corrispondenti alle quantità di P_2O_5 indicate nella tabella 1 (da mg 0,12 a mg 0,48) ottenendo 10 soluzioni sulle quali si è effettuata la reazione cromatica secondo il procedimento descritto.

Tabella I

Prova N.	P_2O_5 mg	Trasparenza T %	Estinzione specifica k	Fattore analitico $A = \frac{c}{k}$ A (mg di P_2O_5)
1	0,12	69,8	0,156	0,7692
2	0,16	61,9	0,209	0,7655
3	0,20	55,0	0,260	0,7692
4	0,24	49,0	0,310	0,7742
5	0,28	43,7	0,360	0,7778
6	0,32	38,8	0,411	0,7786
7	0,36	34,6	0,461	0,7809
8	0,40	30,8	0,511	0,7828
9	0,44	27,3	0,564	0,7801
10	0,48	24,2	0,616	0,7792

Fattore analitico medio 0,7745

* Le espressioni «estinzione specifica» (k), detta anche «coefficiente di estinzione», e «fattore analitico» (A), sono state prese da Gazzi (4). Il fattore analitico (A = c/k) rappresenta la concentrazione, espressa nelle unità scelte, della soluzione avente estinzione specifica uguale all'unità. Questo numero deve quindi essere moltiplicato per l'estinzione specifica trovata per ottenere la concentrazione delle soluzioni in esame.

La tabella I riporta la trasparenza, l'estinzione specifica e il fattore analitico di ciascuna soluzione. Mediante i valori dell'estinzione specifica è possibile costruire il grafico c/k, che risulta una retta passante per l'origine e che può anche servire, se di dimensioni adeguate, per risalire dall'estinzione di una soluzione a titolo incognito al suo contenuto in P_2O_5 con una approssimazione soddisfacente. Più comodo è calcolare dai singoli fattori il fattore medio. Moltiplicando questo per l'estinzione specifica si ha senz'altro il tenore di P_2O_5 contenuto nella soluzione.

La temperatura rimane praticamente costante durante le operazioni di diluizione e di prelievo quindi non esercita alcuna influenza sulle operazioni medesime.

Nelle soluzioni provenienti da estrazioni con citrato d'ammonio (fosfato bicalcico dei perfosfati), in quelle provenienti da estrazioni con acido citrico (scorie Thomas) e infine in quelle derivanti dall'attacco con H_2SO_4 concentrato per determinare la P_2O_5 totale, si trovano piccole quantità di citrato, di acido citrico e di acido solforico.

Esse, nella misura in cui sono presenti, non disturbano il normale svolgimento della reazione cromatica che procederebbe ugualmente anche con quantità maggiori. Non è conveniente quindi distruggere l'acido citrico e il citrato ammonico con permanganato di potassio in quanto si è notato, come già avevano visto Popp e Westerhoff, che il suo impiego abbassa i risultati. D'altra parte, la quantità di acido solforico che si usa normalmente per fare un attacco è di 25 cc di H_2SO_4 d. 1,84 pari a circa g 43 di H_2SO_4. Nei 10 cc di soluzione diluita in cui viene effettuato il saggio colorimetrico risulta quindi contenuta una quantità di acido pari a circa 1/3 di cc di H_2SO_4 N. Ora, potendo, come si è visto, la quantità di acido variare in una prova da 25 a 50 cc di H_2SO_4 N senza che il risultato si modifichi, è chiaro che non si deve tenere conto della piccola quantità di acido solforico presente.

L'esattezza dei recipienti di misura ha invece una grande importanza, almeno nelle condizioni in cui sono state eseguite le prove di cui alla tabella I. L'uso di vetreria controllata, molto costosa e difficilmente reperibile non è tuttavia indispensabile. Volendo anzi dare al metodo un carattere di praticità per renderlo indipendente da misure assolute si consiglia di adottare la tecnica seguente:

1) Ci si procuri un pallone tarato da 250 cc, un pallone tarato da 1000 cc e una pipetta da 10 cc, senza preoccuparsi della loro esattezza. Tali strumenti dovranno essere usati in tutte le operazioni, di « messa a punto » e di « analisi ».

2) Si effettuino 5 pesate esattissime di KH_2PO_4 puro e secco, corrispondenti a g 0,25-0,5-0,75-1,0 e 1,25 di P_2O_5.

Si sciolgano dette quantità in acqua e si portino a volume nel pallone da 250 cc. Le quantità indicate vengono a corrispondere ai tenori di P_2O_5 che si avrebbero in g 5 di fertilizzante rispettivamente al titolo del 5, 10, 15, 20, 25 %.

Si prelevino con la pipetta 10 cc di questa soluzione e si portino nel pallone da 1000 cc. Infine con la pipetta si prelevino 10 cc della soluzione diluita e su di essi si esegua la reazione colorimetrica. In tal modo si otterranno 5 soluzioni colorate d'intensità crescente e proporzionale alla quantità di P_2O_5 contenuta nelle soluzioni di partenza.

3) Si effettuino le misure fotometriche necessarie per costruire il diagramma P_2O_5 % — estinzione specifica, ovvero si calcolino i singoli fattori analitici e il fattore analitico medio.

Operando in questo modo il fattore analitico trovato è valido solo per i recipienti tarati con cui è stato calcolato e sempre che questi vengano usati con la stessa tecnica; si consegue però il vantaggio di essere indipendenti da errori di taratura della vetreria.

Nella tabella II sono riportati i risultati di alcune analisi di concimi eseguite per via ponderale e per via colorimetrica, queste ultime con calcolo fatto su grafico o col fattore analitico medio. Come si vede i risultati sono soddisfacenti poichè l'errore medio non supera il $\pm$ 0,3 %.

Tabella II

Fertilizzante	Percentuale di P_2O_5			Scarto massimo dal ponderale (% relativo)
	Per via colorimetrica		Per via ponderale	
	Con fattore	Da grafico		
Perfosfato	16,69	16,75	16,86	— 0,17
»	19,60	19,7	19,87	— 0,27
»	18,52	18,6	18,44	+ 0,16
»	16,08	16,15	16,09	+ 0,06
»	17,0	17,1	17,08	— 0,08
»	17,73	17,8	17,73	+ 0,07
»	18,52	18,6	18,50	+ 0,10
»	19,90	20,0	19,94	+ 0,06
»	19,28	19,4	19,32	+ 0,08
Scoria Thomas	18,43	18,6	18,70	— 0,27
»	19,6	19,7	19,78	— 0,18
Fosforite	33,0	33,1	33,0	+ 0,10

Numerose altre analisi, eseguite anche su mescolanze artificiali a titolo noto, contenenti impurezze nelle quantità presenti nei comuni concimi fosfatici, non riportate per brevità, hanno fornito risultati in cui l'errore è contenuto entro gli stessi limiti: di più, si è sempre ottenuto una perfetta riproducibilità dei dati in diverse determinazioni effettuate partendo dal medesimo estratto.

RIASSUNTO

Vengono passati in rassegna i tentativi finora fatti per applicare il metodo fotometrico che si fonda sulla riduzione dell'acido fosfo-molibdico alla determinazione del titolo dei concimi fosfatici.

Sulla base del recente studio di C. Ferrari (« Contributo alla conoscenza del bleu di molibdeno fosforato ») vengono individuate le cause delle incertezze che sono insite nei procedimenti proposti e che hanno finora impedito l'introduzione di questo metodo nel campo dell'analisi dei concimi.

Si descrive il procedimento che è opportuno seguire per ottenere risultati soddisfacenti: poichè l'errore medio può essere agevolmente contenuto nei limiti ammessi anche nelle determinazioni ponderali ($\pm$ 0,3 %), si conclude auspicando una sperimentazione su larga scala da parte dei laboratori ufficiali allo scopo di decidere sulla opportunità di includere questo moderno procedimento d'analisi, semplice e rapido, tra i « metodi ufficiali » di determinazione del titolo dei concimi fosfatici.

SUMMARY

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF P_2O_5 CONTENT IN PHOSPHATE FERTILIZERS

by Pietro Gelli

Literature on the photometric method based upon phosphomolybdic acid reduction as applied to determination of P_2O_5 content in phosphate fertilizers, has been perused.

On the basis of C. Ferrari's recent paper ('Contribution to the knowledge of the phosphorated molybdenum bleu') error sources of the procedures so far followed have been traced, hindering the application of such a photometric method to analysis of fertilizers.

A new analytical procedure is described, by which satisfactory results may be obtained: since the experimental error may be easily limited, as in the gravimetric analytical methods, within the range of $\pm$ 0,3 %, the hope is expressed that the new analytical procedure will be tested on a large scale in Official Laboratories, so that its possible adoption as a routine official method can be considered.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ferrari, C. Ricerche di microanalisi fotometrica. IV - Dosamento colorimetrico dell'acido fosforico. *Memorie Accad. Scienze Istituto Bologna,* 1935-36, serie IX, tomo III, 57-65.

(2) Ferrari, C. Il bleu di molibdeno e il dosamento colorimetrico dell'acido fosforico in presenza di acido silicico. *Memorie Accad. Scienze Istituto Bologna,* 1936-37, serie IX, tomo IV, 63-68.

(3) Ferrari, C. Contributo alla conoscenza del bleu di molibdeno fosforato. (Nota in corso di pubblicazione).

(4) Gazzi, V. Spettroscopia applicata all'analisi chimica. Bologna, Ed. Dr. C. Zuffi, 1944, 224-232.

(5) Gericke, S. Die chemische Analyse. Stuttgart, F. Enke Verl., 1949, XLIV. Bd. Analytische Chemie der Düngemittel, 43-47.

(6) Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste. Metodi ufficiali di analisi per le materie che interessano l'agricoltura. Roma, Istituto Poligrafico dello Stato, 1934, vol. I, parte I.

(7) Popp, M., u. Westerhoff, H. Kolorimetrische Phosphorsäure-Bestimmungen in Düngemitteln. *Bodenkunde u. Pflanzenernährung,* Berlin 1937, 4. Bd., 1./2. Heft, 19-29.

(8) Scheel, K. C. Die kolorimetrische Bestimmung der Phosphorsäure in Düngemitteln mit dem Pulfrich-Photometer. *Ztschr. f. analyt. Chemie,* München 1936, 105. Bd., 7./8. Heft, 257-269.

ISTITUTO DI CHIMICA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Carlo Ferrari)
BOLOGNA

Pietro Gelli

SULLA DETERMINAZIONE DEL TITOLO DEI CONCIMI POTASSICI COL METODO "ALLA FIAMMA" *

I metodi ufficiali italiani (1) prescrivono che la determinazione della potassa nei concimi venga eseguita col metodo ponderale al perclorato che è notoriamente lungo, laborioso e certo non esente da cause di errore.

Per cercare di snellire questa determinazione, pur conservando un grado di esattezza per lo meno uguale, è stato effettuato lo studio oggetto di questa Nota sottoponendo ad una accurata indagine il procedimento « alla fiamma » che, per i requisiti di semplicità e rapidità, è stato ritenuto il più adatto per risolvere il problema proposto.

In questo primo tentativo è stata usata l'apparecchiatura di Schuhknecht-Waibel, della Casa Zeiss, a cellula fotoelettrica munita di un filtro permeabile soltanto alle radiazioni prossime alle due righe rosse (769,9 e 766,5 mμ) del potassio e collegata ad un galvanometro a specchio molto sensibile. L'eccitazione è prodotta da una fiamma acetilene-aria opportunamente regolata.

Sull'uso di tale apparecchio, ormai entrato nel corredo ordinario di moltissimi laboratori, si rimanda alle istruzioni edite dalla Casa costruttrice (3).

Esperienze preliminari hanno mostrato l'inutilità di applicare alla fotocellula una forte tensione anodica per ottenere ampie elongazioni dell'indice del galvanometro, perchè in questo caso esso oscillerebbe con troppa irregolarità sulla scala e non permetterebbe letture precise. Si è constatato d'altra parte che non è neppure conveniente applicare alla fotocellula una tensione troppo bassa, perchè si ridurrebbe eccessivamente la sensibilità. Quindi per ciascun strumento è necessario fare alcune prove in modo da stabilire la tensione anodica più adatta a consentire una buona sensibilità e una lettura sufficientemente esatta: a titolo indicativo si precisa che, con lo strumento usato, si è trovato conveniente applicare alla fotocellula una tensione anodica di 40 Volta e al

* Lavoro eseguito mercè una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

galvanometro una resistenza di 0,1 M Ω e usare pressioni di aria e acetilene rispettivamente di 0,4 atm. e di 400 mm di acqua.

Altre prove preliminari sono state effettuate per stabilire l'intervallo di concentrazione ottimo entro il quale operare: si è osservato che quando la concentrazione varia da 1 a 10 mg di K_2O per cc, la linea che si ottiene ponendo in ascisse le concentrazioni e in ordinate le corrispondenti deviazioni galvanometriche registrate sulla scala, ha una curvatura molto pronunciata: operare in queste condizioni comporterebbe una perdita di sensibilità, tanto più notevole quanto più elevata fosse la concentrazione.

Con soluzioni più diluite (0,5-2,0 mg di K_2O per cc) si nota un miglioramento, però le condizioni ottime appaiono quelle con cui è stato costruito il diagramma riportato (0,07-0,15 mg di K_2O per cc). In questo intervallo piccole differenze di concentrazione producono una sensibile deviazione dell'indice e, d'altra parte, le indicazioni del galvanometro sono stabili e di comoda lettura. Inoltre la sensibilità è praticamente la stessa per tutto l'intervallo di concentrazioni considerato.

Le soluzioni che hanno servito a costruire il diagramma sono state preparate partendo da una soluzione madre A) contenente 5 mg di K_2O per cc, sotto forma di KCl (g 1,9788 di KCl purissimo Merck, seccato in stufa, pari a g 1,250 di K_2O in 250 cc). Sono stati prelevati cc 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 di questa soluzione A), pari a g 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15 di K_2O, e si sono portati al volume di un litro, ottenendo le soluzioni B_1), B_2), B_3), ... B_9).

Le soluzioni così diluite, esaminate con l'apparecchio di Schuhknecht-Waibel, hanno fornito le seguenti deviazioni (a partire dallo zero): 54, 61,5, 69,5, 77, 85, 92,5, 100, 107, 114, che hanno servito a costruire il diagramma.

Se il concime potassico ha un titolo di K_2O intorno al 40-50 %, sciogliendone g 0,25 * in un litro d'acqua, si otterranno sempre soluzioni che avranno un contenuto in K_2O per cc compreso entro i limiti di concentrazione con cui è stato costruito il diagramma. Diviene quindi opportuno sostituire nel diagramma stesso, al posto delle concentrazioni in mg/cc, direttamente il percento in K_2O quando si sia operata la diluizione descritta (g 0,25 del concime in un litro). Qualora non si voglia ricorrere al diagramma per ogni analisi, si può calcolare un « fattore » per cui moltiplicare il dato fotometrico: occorre in questo caso tenere presente che la retta non passa per l'origine (con acqua distillata si legge sulla scala 10,5).

---

* Questa pesata dovrà essere fatta alla bilancia analitica dopo avere ben omogeneizzato il campione in un mortaio.

La riproducibilità delle letture è perfetta quando si operi tenendo scrupolosamente costanti le pressioni dell'acetilene e dell'aria e rispettando con cura tutte le prescrizioni tecniche alle quali si è accennato più sopra.

Si è quindi indagato sull'influenza che prevedibilmente avrebbero esercitato sulla determinazione « alla fiamma » altri elementi alcalini o alcalino-terrosi che normalmente sono contenuti nei concimi potassici.

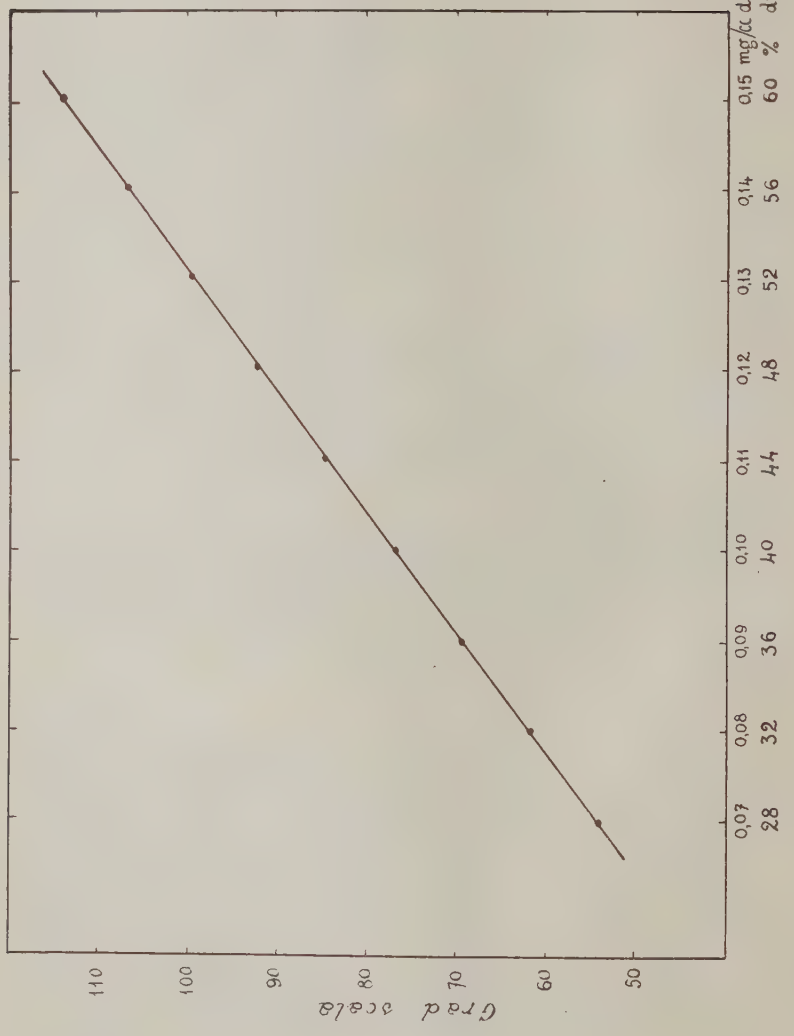
Dato che il filtro rosso attraverso al quale vengono fatte passare le radiazioni emesse dalla fiamma è permeabile soltanto in corrispondenza delle righe del potassio che si trovano a 769,9 e a 766,5 mμ, mentre le radiazioni emesse da altri elementi, come il sodio, il magnesio, il calcio, vengono invece completamente trattenute, si è voluto soprattutto indagare sull'effetto deprimente o esaltante che possono determinare questi elementi sulla intensità delle righe rosse del potassio e, in caso di effetto manifesto, stabilire se esso fosse tale da consentire ugualmente l'impiego della fotometria di fiamma nell'analisi che qui interessa. L'indagine è stata limitata alla influenza esercitata dal sodio, dal magnesio e dal calcio perchè questi sono gli elementi che di solito accompagnano il potassio in quantità notevoli nei concimi.

Sono state effettuate esperienze con soluzioni che contenevano le stesse quantità di K_2O delle soluzioni B) — che sono servite per costruire il diagramma — e inoltre quantità di sali di sodio, o di magnesio o di calcio, in ragione di mg 0,1 per cc, rispettivamente di Na_2O, o di MgO o di CaO.

I risultati sono raccolti nella tabella I:

Tabella I

Prova N.	Soluzioni B) K_2O mg/cc	Divisioni della scala			
		Soluzioni B) pure	Soluzioni B) + sale di Na (Na_2O per cc mg 0,1)	Soluzioni B) + sale di Mg (MgO per cc mg 0,1)	Soluzioni B) + sale di Ca (CaO per cc mg 0,1)
1	0,00	10,5	10,5	10,5	10,5
2	0,07	54,0	54,5	53,0	53,0
3	0,08	61,5	62,0	60,5	60,0
4	0,09	69,5	70,5	68,5	68,5
5	0,10	77,0	77,5	76,5	76,5
6	0,11	85,0	85,0	84,5	84,0
7	0,12	92,5	93,0	92,0	91,0
8	0,13	100,0	101,0	100,0	100,0
9	0,14	107,0	107,0	106,0	105,5
10	0,15	114,0	114,0	114,0	113,0


Grad scala
110
100
90
80
70
60
50
0,07 0,08 0,09 0,10 0,11 0,12 0,13 0,14 0,15 mg/cc di K_2O
28 32 36 40 44 48 52 56 60 % di K_2O

Si è quindi effettuata una duplice serie di esperienze operando con soluzioni contenenti cloruro potassico in quantità rispettivamente corrispondenti a mg 0,05 e 0,1 di K_2O per cc e quantità di sali inquinanti crescenti in ciascuna delle due serie da 0 a 1 mg/cc, rispettivamente di Na_2O, di MgO e di CaO.

I risultati sono raccolti nella tabella II:

Tabella II

Prova N.	K_2O mg/cc	Elemento inquinante Sodio		Elemento inquinante Magnesio		Elemento inquinante Calcio	
		Na_2O mg/cc	Divisioni scala	MgO mg/cc	Divisioni scala	CaO mg/cc	Divisioni scala
1	0,05	0,00	38,5	0,00	38,5	0,00	38,5
2	0,05	0,10	39,5	0,10	38,5	0,10	38,5
3	0,05	0,25	41,0	0,25	38,0	0,25	38,0
4	0,05	0,50	43,0	0,50	38,0	0,50	37,5
5	0,05	1,00	45,0	1,00	37,5	1,00	37,0
6	0,10	0,00	74,5	0,00	74,5	0,00	74,5
7	0,10	0,10	76,0	0,10	74,0	0,10	74,0
8	0,10	0,25	76,5	0,25	73,0	0,25	73,5
9	0,10	0,50	79,5	0,50	73,0	0,50	73,0
10	0,10	1,00	81,5	1,00	72,0	1,00	72,0

I risultati delle prove descritte e raccolte nelle tabelle I e II dimostrano:

1) che il sodio esercita una influenza positiva nel senso che le deviazioni galvanometriche sono un po' maggiori quando è presente questo elemento accanto al potassio, mentre il calcio e il magnesio esercitano invece una influenza negativa;

2) che, nelle quantità in cui questi elementi possono trovarsi nei concimi potassici, specialmente concentrati e puri, questa influenza è minima e porta tutt'al più ad uno scarto di due graduazioni della scala: l'errore conseguente si aggira in pratica intorno al $\pm$ 0,5 %. Anche nel caso di sali greggi (carnallite, kainite e silvinite), nei quali si trovano quantità relativamente notevoli di sali di sodio (NaCl) e di magnesio ($MgCl_2$, $MgSO_4$), l'influenza rimane modesta e l'errore medio è contenuto nei limiti del $\pm$ 1 %.

Si può quindi concludere che:

a) È possibile determinare il titolo dei concimi potassici impiegando il metodo « alla fiamma ».

b) L'errore che si può commettere rientra nei limiti del $\pm$ 1 %.

c) Il tempo necessario per un'analisi è estremamente breve in confronto a quello richiesto dal procedimento ponderale ora prescritto dai metodi ufficiali.

d) L'estrema rapidità, la semplicità e l'esattezza del procedimento studiato autorizzano a proporlo per una pratica utilizzazione nei laboratori d'analisi dei fertilizzanti.

Le prove effettuate con l'apparecchio di Schuhknecht-Waibel sono state ripetute impiegando il Fotometro a fiamma della Casa Perkin-Elmer, mod. 52 c (2). I risultati sono stati del tutto analoghi, malgrado sia stato possibile effettuare per ora le prove soltanto col « metodo diretto ». È prevedibile che i risultati saranno ancora migliori quando si applicherà il « metodo dello standard interno ».

L'uso del Fotometro a fiamma della Casa Perkin-Elmer offre poi il vantaggio di consentire la contemporanea determinazione del contenuto in Na_2O, MgO e CaO del concime in esame.

RIASSUNTO

Viene sperimentato il metodo di determinazione « alla fiamma » del potassio allo scopo di applicarlo all'analisi dei concimi potassici.

Viene dimostrato che, nonostante l'azione perturbatrice esercitata dai sali di sodio, di magnesio e di calcio presenti nelle proporzioni nelle quali si trovano comunemente nei concimi potassici, è possibile contenere l'errore entro i limiti del $\pm$ 1 %.

In base ai risultati conseguiti si auspica una vasta sperimentazione da parte dei laboratori ufficiali per decidere sulla opportunità di adottare il procedimento « alla fiamma » come metodo ufficiale per la determinazione del titolo dei concimi potassici.

SUMMARY

DETERMINATION OF K_2O CONTENT IN POTASSIC FERTILIZERS BY THE FLAME PHOTOMETRIC METHOD

by Pietro Gelli

The method has been largely tested, in order to see to what extent it can be relied upon in potassic fertilizer analysis. Under the analytical conditions followed, experimental error is limited within $\pm$ 1 %, regardless of the interfering action of sodium, magnesium and calcium salts present in the proportions normally present in the potassic fertilizers.

There is hope that data obtained may well offer the basis for larger confirmatory work in official laboratories, in order to collect evidence on the value of the 'flame method' as official routine procedure for determining the contents of potassic fertilizers.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste. Metodi ufficiali di analisi per le materie che interessano l'agricoltura. Roma, Istituto Poligrafico dello Stato, 1934, vol. I, parte I.

(2) Perkin-Elmer Corp. (The). Istruzioni per l'uso del Fotometro a fiamma. Glenbrook, Connecticut, 1949.

(3) Zeiss, C. Istruzioni per l'uso dell'apparecchio di Schuhknecht-Waibel per la determinazione del potassio e dell'acido fosforico. Jena, s. d.

Ricevuto il 25 luglio 1951.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
BOLOGNA

Antonio Canova

MARCIUME DELLE PERE CAUSATO DA LIEVITI

Generalità

È un fatto a tutti oltremodo familiare che le pere verso la fine del loro processo di differenziazione, e specialmente quando ha inizio la maturazione, possono andare soggette a fenomeni di marciume.

E ciò più che altro in seguito all'attacco di Ifali del genere *Monilia*, tipici agenti di questo tipo di alterazione.

Il marciume allora si presenta sotto forma di macchie brune — tra il marrone chiaro ed il cioccolato — che si affondano notevolmente nella polpa e sulle quali compaiono, dopo un certo periodo, i caratteristici cuscinetti grigi che assai spesso assumono una singolare disposizione a circoli concentrici al punto dove è cominciata l'infezione.

In certi casi la comparsa di tali cuscinetti può però mancare od essere limitata: ciò avviene nei cosiddetti attacchi larvati di *Monilia* in cui, cioè, il micelio rimane localizzato ai tessuti interni del frutto. Simili attacchi larvati si distinguono però anche per altri caratteri: maggior consistenza e tonalità più cupa — talvolta quasi nera — delle zone di marciume.

Accanto a questo tipo di marciume delle Pomacee, senza vegetazioni muffacee esterne, dovuto a *Monilia*, ne esiste un altro — più che altro comune sul pero — che viene con esso confuso, e non solo dai pratici, sebbene non abbia nulla in comune dal punto di vista eziologico e sia anche alquanto differente per le caratteristiche interne ed esterne.

Di tale particolare tipo di marciume, che qui di seguito descriviamo, non ci risulta esista precedente segnalazione nella letteratura fitopatologica.

Caratteristiche del marciume

Macroscopiche

Le pere colpite presentano macchie pressappoco circolari — che hanno inizio quasi sempre attorno ad una ferita, o ad un foro, attribuibile presumibilmente all'azione di insetti — di color bruno-scuro o bruno-cuoio uniforme, sfumante verso la parte periferica in un alone livido, largo qualche millimetro, di color verde-oliva, sempre più impallidentesi fino a confondersi con la tinta normale dell'epidermide.

Il frutto in corrispondenza delle macchie non ha perso molto della sua consistenza normale.

Su ogni frutto si trovano una o più di tali macchie che, col tempo, confluiscono ed occupano tutta la superficie del frutto stesso. La loro localizzazione è più frequente nella parte slargata della pera.

Nei frutti della varietà « Scipiona » sono anche evidenti sulla superficie piccole vescichette in corrispondenza delle quali l'epicarpio è di colore meno accentuato rispetto quello del marciume, sotto le quali compare un velo mucillagginoso che l'esame microscopico rileva essere costituito da colonie di lieviti.

L'alterazione si diffonde profondamente nella polpa tanto da poter raggiungere la zona delle caselle seminali *.

Le pere di norma cadono prima che il processo di marciume si sia esteso a tutto il frutto. Ed anche questa caratteristica distingue la malattia dall'attacco larvato di *Monilia*, nel quale si ha piuttosto una persistenza dei frutti sulla pianta più prolungata del normale.

La malattia, a detta dei frutticultori interessati, comincia a manifestarsi ai primi di luglio e continua con ritmo sempre crescente fino al periodo della raccolta; non ci risulta che appaia nel prodotto immagazzinato.

Le varietà che abbiamo trovato colpite sono la « Scipiona » e la « Curato ».

---

* Molto spesso nei frutti in cui lo stato di marciume è molto avanzato si notano piccole cavità (circondate da uno strato di tessuti di aspetto spugnoso), localizzate nella zona sotto-epidermica oppure anche distribuite nella polpa. Non siamo però certi che tali manifestazioni facciano parte della sintomatologia che qui si studia.

Microscopiche

All'esame microscopico i tessuti affetti dal marciume, i quali hanno subìto una parziale lisi dei singoli elementi cellulari che li costituiscono, appaiono invasi da lieviti; lieviti che sono più abbondanti nella zona meno alterata, e cioè in quell'alone livido che, si è detto, circonda la macchia imbrunita e nel quale i tessuti sono ancora strutturalmente intatti.

Isolamenti

I lieviti osservati nel corso dell'esame istologico dei frutti alterati sono stati isolati con l'usuale tecnica di laboratorio. Le colonie ottenute in purezza hanno dimostrato che quasi sempre si trattava di una popolazione di tre tipi di tali microrganismi, che — sottoposti all'esame dell'Istituto di Microbiologia agraria di questa Università — sono stati identificati come *Torulopsis pulcherrima* (Lindner) Sacc., *Mycotorula* sp. e *Saccharomyces apiculatus* Rees.

Inoculazioni artificiali

I tentativi d'inoculazione artificiale sono stati eseguiti con tutti e tre i lieviti, sia separatamente che associati in varie combinazioni, tramite una ferita oppure su frutti indenni.

Abbiamo operato su pere della varietà « Scipiona » in uno stadio di maturazione piuttosto arretrato, pressappoco simile a quello in cui avevamo osservato l'inizio dell'infezione in natura.

I risultati ottenuti sono riportati nella seguente tabella, in cui « positivo » o « negativo » si riferisce alla capacità o meno di riprodurre il marciume con le stesse caratteristiche esterne ed interne, macro- e microscopiche che ha in natura. La diffusione dei lieviti nei tessuti è stata controllata oltre che con l'ispezione microscopica anche con l'esame colturale.

I risultati ottenuti indicano che l'alterazione delle pere da noi studiata è dovuta all'azione di lieviti. Il più attivo di questi è apparso essere la *Mycotorula* sp., in quanto essa agisce anche da sola. Le altre due specie non sono invece in grado di diffondersi nei tessuti del frutto non lesionato se non siano associati fra loro. Il *Saccharomyces apiculatus* mantiene questa proprietà in associazione con la *Mycotorula* sp. o, per lo meno, non disturba l'attività di quest'ultima; mentre la presenza di *Toru-*

Esito delle inoculazioni di colonie pure di lieviti su frutti di pero var. «Scipiona»

Inoculo	Metodo di inoculazione	
	Con ferita	Senza ferita
1) *Torulopsis pulcherrima*	Negativo	Negativo
2) *Saccharomyces apiculatus*	»	»
3) *Mycotorula* sp.	Positivo	»
4) *Torul. pulcherrima* + *Sacch. apiculatus* .	»	»
5) *Torul. pulcherrima* + *Mycotorula* sp. . .	Negativo	»
6) *Sacch. apiculatus* + *Mycotorula* sp. . . .	Positivo	»
7) *Torul. pulcherrima* + *Sacch. apiculatus* + *Mycotorula* sp.	»	»

lopsis pulcherrima agisce negativamente sulle capacità alterative di *Mycotorula* sp.

Nell'associazione dei tre microrganismi non vi è d'altro canto manifestazioni di disturbo reciproco: il marciume e l'aspetto è normale ed in esso i tre lieviti sono uniformemente diffusi. In ogni caso le condizioni termiche più favorevoli alla riproduzione del processo alterativo sono fra i 25° e 30° C.

Non abbiamo indagato la natura e tanto meno abbiamo cercato di interpretare le ragioni di questa singolare manifestazione associativa, certamente molto complessa, che ci avrebbe portato in un campo di ricerche che esula dai compiti della nostra presente indagine.

Epidemiologia

Tanto le osservazioni in natura che le inoculazioni artificiali indicano che il marciume qui descritto è favorito dalla presenza di ferite alla superficie del frutto, in particolare quelle da insetto, così comuni sui frutti delle Pomacee.

I germi dei lieviti che vengono a contatto di tali ferite trovano un ambiente favorevole al loro sviluppo, sia per l'elevata umidità sia per la relativa ricchezza del substrato; le ferite — e tanto più se il frutto ha raggiunto un certo grado di maturazione — sono ricoperte da un velo liquido a contenuto zuccherino in cui le cellule dei Blastomiceti possono moltiplicarsi rapidamente ed acquistare man mano la capacità di aggredire i costituenti degli elementi istologici indenni del mesocarpio, circostanti le lesioni iniziali.

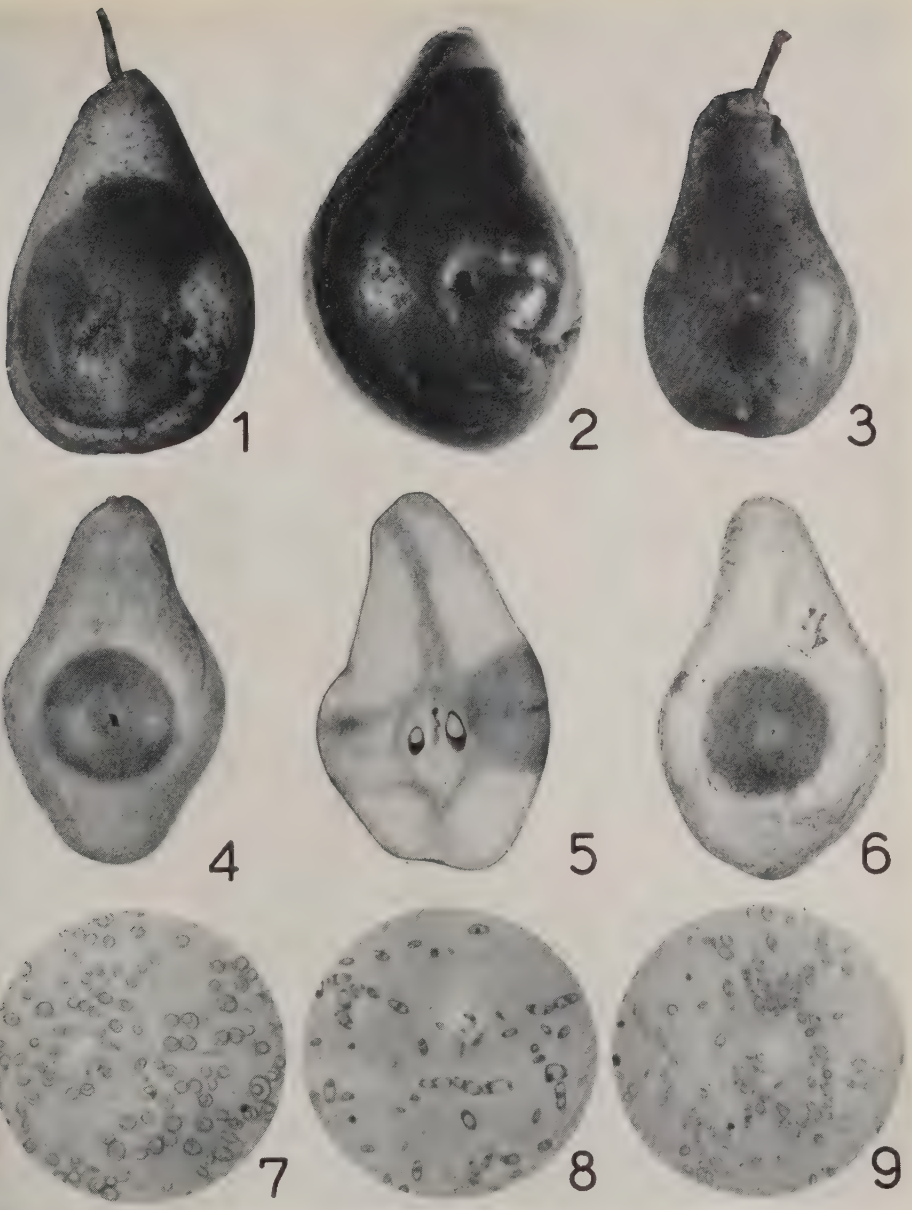


FIG. 1. – Pera « Curato » con zona di marciume attorno ad una ferita d'origine traumatica.
FIG. 2. – Pera « Scipiona » con marciume originatosi in corrispondenza dei fori prodotti da insetti.
FIG. 3. – Pera « Curato » completamente alterata. Si noti che il frutto ha mantenuto il suo aspetto normale tranne, s'intende, il colore.
FIG. 4. – Frutto di « Scipiona » dopo 3 giorni dall'inoculazione con *Mycotorula* sp.
FIG. 5. – Sezione del frutto di fig. 4; l'alterazione si spinge fino al livello delle caselle seminali.
FIG. 6. – Frutto di « Scipiona » dopo 5 giorni dall'inoculazione con *Mycotorula* sp + *Saccharomyces apiculatus* Rees.
FIG. 7. – Microfotografia di *Torulopsis pulcherrima* (Lidner) Sacc.
FIG. 8. – Microfotografia di *Mycotorula* sp.
FIG. 9. – Microfotografia di *Saccharomyces apiculatus* Rees.

È verosimile che tali centri iniziali di fermentazione o di marciume attraggano gli insetti in cerca di alimento; ed essi, inquinando il loro corpo con i lieviti che vi pullulano, divengono così elementi non solo passivi, ma anche attivi di diffusione del marciume.

RIASSUNTO

È segnalata una alterazione delle pere dovuta a tre tipi di lieviti: *Torulopsis pulcherrima* (Lindner) Sacc., *Mycotorula* sp. e *Saccharomyces apiculatus* Rees.

Dell'alterazione sono descritte le caratteristiche macro- e microscopiche, con particolare riguardo ai caratteri che la differenziano da quella dovuta ad un attacco larvato di *Monilia*.

L'alterazione è stata riprodotta artificialmente.

La penetrazione degli agenti di questo tipo di marciume è legata alla presenza di ferite nell'epicarpio.

In natura l'infezione è favorita dalle lesioni prodotte da insetti, i quali probabilmente agiscono anche come vettori dei lieviti.

SUMMARY

ROT OF PEAR FRUITS CAUSED BY YEASTS

by Antonio Canova

Here is described a rot of pear fruits caused by three types of yeasts: *Torulopsis pulcherrima* (Lindner) Sacc., *Mycotorula* sp. and *Saccharomyces apiculatus* Rees.

The macro-and microscopic symptoms of the disease are described, with special hints as to the details by which it is distinguished from that caused by the masked attack of *Monilia* spp.

The alteration has been reproduced artificially.

The penetration of the agents of this rot depend on wounds in the skin.

The spreading of the disease is favoured by the existence on the fruits of injuries caused by insects; these probably act also as vectors of yeasts.

Ricevuto il 25 luglio 1951.

STAZIONE SPERIMENTALE DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA
(Direttore: Italo Cosmo)
CONEGLIANO

Giuseppe Pieri

INDAGINI SUL COMPORTAMENTO DEL *SACCHAROMYCES ELLIPSOIDEUS* NEL CORSO DELLA FERMENTAZIONE ALCOOLICA DI MOSTI TRATTATI CON ESTERI FOSFORICI

Premessa

La letteratura enologica si va ogni giorno arricchendo di nuovi lavori sull'attività dei fermenti in presenza di sostanze chimiche.

L'impiego degli esteri fosforici nella lotta contro la cocciniglia cotonosa della vite (*Pseudococcus vitis* Risso ex *Ps. vitis* Nied.) ha fatto prendere in esame il comportamento dei vari fattori partecipanti al processo di trasformazione delle uve in vino, in presenza di tali sostanze insetticide.

In un precedente lavoro (1) abbiamo messo in evidenza l'azione dei trattamenti a base di esteri fosforici sulla fermentazione alcoolica, tralasciando di indagare l'influenza che detti insetticidi possono presentare sulla flora blastomicetica, con particolare riferimento al *Saccharomyces ellipsoideus*.

Le deviazioni del processo fermentativo rilevate nei due gruppi di campioni, esaminati nel predetto lavoro, sono state da noi attribuite ad una selezione dei fermenti, dato che l'andamento fermentativo di alcuni di essi ci ha fatto ritenere che determinate dosi d'insetticida esaltassero l'attività del lievito e che dosi più elevate, invece, portassero alla morte di alcuni tipi di cellule ed alla paralisi pressochè totale dei tipi più resistenti.

Considerato che l'azione degli esteri fosforici nel processo fermentativo fosse dovuta anche alla natura del mezzo in cui i fermenti si trovano, alla temperatura alla quale si svolge il processo ed al tipo dei fermenti, venne in tal senso proseguita l'indagine — sulla quale riferisco con la presente nota — allo scopo di chiarire, se possibile, i vari punti oscuri.

Si è constatato che alcune sostanze chimiche hanno un comportamento diverso con i vari componenti la flora blastomicetica e che i lieviti selvatici hanno una minore resistenza dei buoni lieviti a dette sostanze (2) (3).

Campioni	Insetticida		Aggiunta dei fermenti		Inizio della fermentazione		1° trattamento	
	Tipo	gr.	Giorno	Ora	Giorno	Ora	Giorno	Ora
Bevuta n. 1	Fosferno	0,023	1° maggio	15,15	2 maggio	14,00	30 aprile	15,40
» » 2	»	0,023	30 aprile	15,15	2 maggio	5,00	3 maggio	10,15
» » 3	»	0,023	30 aprile	15,15	2 maggio	5,00	5 maggio	15,10
» » 4	»	0,023	30 aprile	15,15	3 maggio	9,00	7 maggio	12,00
» » 5	»	0,023	30 aprile	15,15	2 maggio	5,00	7 maggio	12,00
» » 6	»	0,023	1° maggio	15,15	3 maggio	11,00	30 aprile	15,40
» » 7	Controllo		30 aprile	15,15	2 maggio	5,00	—	—

Per far si che l'indagine possa rispondere allo scopo prefissomi, il presente lavoro non è stato condotto, a differenza del precedente, su mosti ottenuti da uve preventivamente trattate, ma su campioni di mosto di vario tipo, ai quali è stato direttamente immesso l'insetticida, mantenuti durante il processo fermentativo a temperatura costante ed innestati con uguale quantità e qualità di lievito *.

Parte sperimentale

Per le prove di cui trattasi ho prelevato due quantitativi di mosto concentrati e sterili e precisamente: uno di mosto rosso al 49.35 % di zucchero e l'altro di mosto bianco al 52 % di zucchero e l'ho poi diluiti, rispettivamente, al 21.45 % ed al 20.75 % di zucchero, determinato al Fehling.

Ho preso due tipi di mosto per constatare se l'azione degli esteri fosforici sul lievito fosse diversa variando il substrato nutritivo.

I mosti così preparati sono stati distribuiti, in ragione di 500 cc., in 14 bevute della capacità di 750 cc., suddivise in due gruppi di 7 campioni e corrispondenti al mosto rosso e bianco. Dopo di che i 14 campioni sono stati posti in autoclave a 100° per 10' per la sterilizzazione. A questa operazione è seguito l'innesto del mosto-cultura.

Il mosto-cultura, necessario per la semina del *Sacch. ellipsoideus* è stato preparato nei due tipi di mosto inoculando il lievito proveniente dal

---

* Ringrazio il laureando Dario Zucchini — beneficiario presso questa Stazione di una borsa di studio assegnatagli dall'Assessorato per l'Agricoltura della Sardegna — per la diligente collaborazione prestatami nell'esecuzione del presente lavoro.

Tabella I

2° trattamento		3° trattamento		Fine della fermentazione	Note
Giorno	Ora	Giorno	Ora	Giorno	
—	—	—	—	20 giugno	Trattamento effettuato il giorno precedente all'aggiunta dei fermenti.
—	—	—	—	20 giugno	Trattamento effettuato il giorno dopo l'inizio della fermentazione.
—	—	—	—	20 giugno	Trattamento effettuato dopo 3 giorni dall'inizio della fermentazione.
—	—	—	—	20 giugno	Trattamento effettuato dopo 4 giorni dall'inizio della fermentazione.
—	—	—	—	20 giugno	Trattamento effettuato dopo 5 giorni dall'inizio della fermentazione.
maggio	10,45	7 maggio	11,00	20 giugno	3 trattamenti: il 1° il giorno precedente all'aggiunta dei fermenti; il 2° e il 3° dopo 1 e 4 giorni dall'inizio della fermentazione.
—	—	—	—	18 maggio	—

ceppo n. 8, selezionato da questa Stazione. L'aggiunta del mosto-cultura di 3-4 giorni a 25°, in ragione di 0.5 cc. per ogni campione in prova, è stata eseguita secondo l'ordine riportato nella allegata tabella I *.

Le aggiunte di estere fosforico sono state eseguite secondo il piano dei trattamenti effettuati nelle prove di campagna, di cui al lavoro citato, salvo piccole variazioni. Le bevute così preparate, sono state chiuse con tappi di gomma portanti la valvola di Muller ad acido solforico concentrato. Per la determinazione di estere fosforico (Fosferno; l'0.0-dietil-o-p-nitrofeniltiofosfato) da aggiungere ai mosti mi sono basato sul quantitativo di soluzione insetticida necessaria per l'esecuzione di un trattamento contro la cocciniglia cotonosa della vite in un vigneto specializzato, allevato a filari. Quantitativo che, come risulta dal calcolo riportato qui sotto **, si è potuto determinare corrispondente a gr. 0.0460 di Fosferno per litro di mosto.

---

* Nella tabella in oggetto ed in quelle successive si riportano solamente i dati relativi ai campioni del mosto rosso, dato che i risultati ottenuti dai campioni del mosto bianco non presentano diversità tali da essere poste in rilievo.

** In pratica si è potuto rilevare che per eseguire un trattamento insetticida sono necessari dai 15 ai 20 hl. di soluzione per ettaro di vigneto, avente una produzione media di q.li 100 di uva, corrispondenti a q.li 90 di mosto. Presa in esame la quantità minore (15 hl.) di soluzione insetticida distribuita e considerato che nella stessa soluzione è contenuta una dose di kg. 1.125 di estere fosforico, equivalente a gr. 75 di Fosferno per ogni 100 litri di acqua, teoricamente in ogni litro di mosto dovrebbero giungere gr. 0,125 di estere fosforico. In realtà detto quantitativo non perviene nella totalità del mosto, ma viene dilavato dalle piogge, trattenuto dalle foglie e dai tralci, disperso dal vento o perduto per imperfetta manualità del trattamento.

Considerato che tutte queste cause asportino circa i 2/3 di soluzione, al mosto giungeranno gr. 0.0460 di estere fosforico, compresa la quantità di insetticida trattenuta dalle bucce e passata poi al mosto, se la fermentazione avviene in presenza delle vinacce.

I diversi campioni di mosto sono stati sottoposti, prima dell'immissione del mosto-cultura e l'aggiunta dell'insetticida, ad un'analisi microscopica per rilevare l'eventuale presenza di lieviti. Una seconda analisi è stata condotta subito dopo l'immissione dei fermenti per controllare la presenza o meno di forme blastomicetiche diverse dal *Sacch. ellipsoideus*.

Dopo tali operazioni di controllo del lievito, i mosti sono stati posti in termostato a 25° C. allo scopo di fare avvenire il processo fermentativo a temperatura costante ed uguale per tutti i campioni diversamente trattati.

Terminata a questo punto la fase preparatoria del lavoro ho eseguito le indagini che passo a descrivere*.

I. — Ricerca della capacità riproduttiva del *Sacch. ellipsoideus* nei mosti trattati con esteri fosforici

Controllato l'inizio del processo fermentativo e completato il piano dei trattamenti, mediante l'aggiunta diretta degli insetticidi ai vari campioni, ho proceduto dopo 6-8 giorni, cioè quando la fase tumultuosa si è ritenuta ultimata, al terzo esame della flora blastomicetica. L'analisi è stata iniziata con l'esame microscopico dei vari campioni di mosto ed a questa ha fatto subito seguito la cultura d'isolamento, per il controllo della purezza dei fermenti e delle colonie di questi, usando quale substrato nutritivo la gelatina al mosto d'uva (4) (5). Per ogni campione sono state preparate tre piastre di Petri le quali, tenute in ambiente intorno ai 20°, hanno presentato, dopo 5-6 giorni, un diverso sviluppo di colonie di *Sacch. ellipsoideus*. Il numero di queste è variato sia nei diversi campioni in prova, come nei vari passaggi di ogni singolo campione.

Come risulta dalla tabella II è evidente la differenza del numero di colonie del campione-teste nei confronti degli altri campioni e come in questi ultimi si notino delle lievissime differenze a seconda del tipo e delle modalità del trattamento.

---

* Lo schema relativo alla descrizione delle varie indagini è stato tratto dal lavoro di G. Luchetti ed E. Bartolini. Alcune ricerche sul *Saccharomyces cerevisiae*. *Annali della Facoltà di Agraria di Pisa*, 1939, vol. II.

Tabella II

Capacità riproduttiva del lievito nei mosti trattati

Campioni	Capacità riproduttiva *	Note
Bevuta n. 1	+ + + + +	Colonie abbondantissime e ben sviluppate
» » 2	+ + + +	» piccole e numerose
» » 3	+ + + +	» » »
» » 4	+ + + +	» appena più sviluppate delle due precedenti prove
» » 5	+ + + +	Colonie piccole e numerose
» » 6	+ + + + +	» abbondantissime come al campione n. 1, ma meno sviluppate.
» » 7	+ + + + + +	Colonie molto numerose e ben sviluppate

Dall'esame della tabella si può ritenere che l'azione esercitata dall'estere fosforico sul *Sacch. ellipsoideus* è quella d'inibire le attitudini del lievito-vegetale e di esaltare quelle del lievito-fermento.

II. — Ricerca dell'azione dell'estere fosforico sull'attività fermentativa del *Sacch. ellipsoideus*

A convalidare o meno l'azione inibitoria dell'estere fosforico sul *Sacch. ellipsoideus* si è voluto controllare l'attività fermentativa del lievito stesso nei vari campioni in prova.

Tale attività è stata rilevata mediante la determinazione degli zuccheri residuali al Fehling, di cui alla tabella che segue:

Tabella III

Zuccheri al Fehling

Campioni	30–4	5–5	8–5	10–5	12–5	15–5	18–5	22–5	28–5	4–6	8–6	14–6	20–6
Bevuta n. 1	21,45	14,15	9,80	7,05	5,10	4,56	3,30	2,28	1,90	1,20	0,90	0,45	0,45
» » 2	21,45	14,95	11,32	9,40	6,86	5,78	4,20	3,84	2,70	2,05	1,60	1,05	1,04
» » 3	21,45	14,50	11,15	9,08	6,86	5,10	4,10	3,60	2,80	2,10	1,70	1,10	1,10
» » 4	21,45	14,10	11,30	9,00	6,60	2,25	4,20	3.20	2,00	1,70	1,40	0,95	0,90
» » 5	21,45	14,80	11,20	8,96	6,80	5,54	4,19	3,90	2,80	2,15	1,55	1,03	1,03
» » 6	21,45	14,05	11,00	6,90	5,25	4,64	3,30	2,96	2,57	1,90	0,80	0,40	0,37
» » 7	21,45	11,70	4,92	2,76	2,10	0,88	0,28	—	—	—	—	—	—

* + + + + + + = molto numerose
+ + + + + = abbondantissime
+ + + + = numerose

I risultati sono abbastanza chiari per quanto riguarda l'azione in esame; chiari, soprattutto, per l'evidente influenza dell'estere fosforico sull'attività del lievito di fronte al teste. Una differenza del processo fermentativo si nota fra i campioni preventivamente trattati e quelli trattati successivamente all'aggiunta dei fermenti.

L'azione degli esteri fosforici sull'attività del *Sacch. ellipsoideus* confrontata a quella esercitata dal DDT sullo stesso fermento è molto diversa.

Infatti il Libes (6) in uno studio in materia, che appresso riporto, ha fatto presente che lo svolgimento del processo fermentativo dei liquidi (mosti) trattati con il DDT, aggiunto precedentemente o successivamente alla loro estrazione, ha ostacolato la vita del fermento nei primi cinque giorni di fermentazione ma in seguito ne ha accelerato la sua attività, tanto da farla eguagliare a quella del fermento del campione-teste.

A differenza di tale insetticida gli esteri fosforici, come vedremo, agiscono sull'attività del lievito determinando un rallentamento del processo fermentativo che dura per tutto lo svolgimento di questo e sara più evidente nei campioni trattati secondo un certo ordine.

È evidente che il *Sacch. ellipsoideus* reagisce all'azione delle due sostanze insetticide in maniera ben diversa.

Nel primo caso, mosti trattati con il DDT, il fermento trova nell'insetticida un ostacolo temporaneo, dato che in seguito riprende la sua normale attività. Ciò si deve ritenere dovuto alla capacità del lievito ad adattarsi all'azione di tale sostanza, oppure si deve ritenere che la sostanza insetticida a contatto dei componenti del mosto si trasformi ed entri in combinazione con questi. Trasformazione che richiede cinque giorni di tempo dopo di che il fermento riprende la sua piena attività.

Nel secondo caso, mosto trattato con gli esteri fosforici, il fermento, come è già fatto noto, si ritiene inibito nel suo potere vegetale.

La sommaria descrizione del processo fermentativo dei vari campioni in esame completa l'indagine sull'azione degli esteri fosforici sull'attività del fermento ellittico.

Campione n. 1. — Il processo fermentativo di questo campione ha avuto inizio dopo circa 23 ore dall'aggiunta dei fermenti, anche se questi hanno trovato nel mosto una certa quantità di estere fosforico. Tale rapido inizio della fermentazione si può attribuire al potere nutritivo del fosforo contenuto nell'insetticida, il quale ha servito da stimolante al lievito. Sebbene il decorso fermentativo di questo campione e di quello del n. 6 sia stato leggermente più rapido in confronto a quello dei campioni in prova trattati successivamente all'aggiunta dei fermenti, rimane evidente l'influenza dell'insetticida sul potere vegetale del lievito. Tale potere vegetale non è minimamente depresso nel campione-teste.

Campione n. 2. — L'inizio del processo fermentativo di questo campione, come quello dei nn. 3, 5 e 7, è avvenuto due giorni dopo l'aggiunta dei fermenti. L'immissione successiva dell'estere fosforico ha determinato un rallentamento del processo fermentativo e tale rallentamento, che è perdurato per tutto il periodo di trasformazione dello zucchero, si deve attribuire al diminuito potere vegetale del *Sacch. ellipsoideus* se non alla sua completa scomparsa.

Campione n. 3. — L'andamento fermentativo di questo campione non s'è differenziato da quello del precedente e le considerazioni che si possono fare a riguardo sono le medesime.

Campione n. 4. — Ha differenziato dagli altri campioni per aver presentato l'inizio della fermentazione un giorno più tardi di tutti gli altri, fenomeno che non ho potuto chiarire, data l'identicità dell'insetticida e del fermento in tutti i campioni. Circa l'andamento fermentativo questo campione si è mantenuto poco distante da quello del n. 1.

Campione n. 5. — L'andamento fermentativo di questo campione è stato parallelo a quello del n. 3.

Campione n. 6. — Questo campione ha dato un quadro completo dell'attività fermentativa del *Sacch. ellipsoideus* in presenza di esteri fosforici. Il processo fermentativo è stato graduale e la diminuzione dello zucchero abbastanza rapida, sebbene il campione abbia subito trattamenti precedenti e successivi all'inizio della fermentazione ed il quantitativo d'insetticida, giunto a contatto del lievito, sia stato triplo che negli altri mosti in prova.

Campione n. 7. — Il processo fermentativo del teste è stato rapido e regolare e la trasformazione dello zucchero iniziale è stata del 99 % circa, nel periodo di 18 giorni.

III. — Ricerca della concentrazione di estere fosforico letale all'attività fermentativa del *Sacch. ellipsoideus*

Il comportamento del campione n. 6 mi ha portato a ricercare la resistenza del lievito a concentrazioni sempre maggiori di estere fosforico. La ricerca di tale resistenza è necessaria per poter eseguire liberamente qualsiasi numero di trattamenti anticoccidici richiesti durante la campagna viticola, senza recare danni sia alla pianta, sia al frutto, come, successivamente, ai prodotti di trasformazione di questo ultimo.

A tale riguardo è stata impostata la seguente prova:

in n. 11 bevute, della capacità di 100 cc., sono stati posti 50 cc. di mosto. Divise le bevute in 3 gruppi, di cui 2 di 5 bevute ciascuno ed uno di una bevuta per il teste, si sono praticati i seguenti trattamenti:

1° gruppo. — n. 5 bevute: dosi litro rispettivamente di gr. 0.05, 0.10, 0.50, 0.75, 1.00 di fosferno aggiunte precedentemente all'innesto dei fermenti;

2° gruppo. — n. 5 bevute: dosi come sopra aggiunte successivamente all'innesto dei fermenti;

3° gruppo. — n. 1 bevuta: nessun trattamento (teste).

Tabella IV

Determinazione della concentrazione di estere fosforico letale al fermento

Campioni	Quantitativo di insetticida aggiunto Gr. per litro	Resistenza del lievito ai trattamenti effettuati *	
		Prima dell'innesto	Dopo l'innesto
Bevuta n. 1 a	0.05	8	
» » 1 b	0.05		8
» » 2 a	0,10		
» » 2 b	0.10		8
» » 3 a	0.50	8	
» » 3 b	0.50		7
» » 4 a	0.75		
» » 4 b	0.75		5
» » 5 a	1,00	5	
» » 5 b	1.00		5
» » 6	teste	9	

* 9 = ottima 6 = buona
8 = molto elevata 5 = scarsa
7 = elevata

Da questa prova è risultato che la resistenza del *Sacch. ellipsoideus* a soluzioni insetticide con concentrazioni diverse, ma sempre superiori a quelle comunemente usate, varia a seconda che l'aggiunta delle medesime viene effettuata prima o dopo l'inoculazione del lievito nel mosto. La resistenza del fermento si presenta molto elevata per cencentrazioni di estere fosforico fino a gr. 0.10 per litro di mosto, per entrambe le prove. Per concentrazioni superiori (gr. 0.50, 0.75, 1.00) la resistenza del *Sacch. ellipsoideus* va diminuendo sia nella stessa fase della prova, come nelle due diverse fasi della prova con la stessa dose.

Ricerca dell'influenza del quantitativo di *Sacch*

Campioni	Insetticida aggiunto gr/litro	Fermenti aggiunti cc/litro	Aggiunta dei fermenti		Inizio della fermentazione		1° trattamento	
			Giorno	Ora	Giorno	Ora *	Giorno	Ora
Bevuta n. 1	0,046	2,00	11 giugno	15,00	12 giugno	11,00	10 giugno	15,4
» » 2	0,046	4,00	10 giugno	15,00	11 giugno	9,30	12 giugno	10,1
» » 3	0,046	2,00	10 giugno	15,00	11 giugno	11,20	14 giugno	15.1
» » 4	0,046	4,00	11 giugno	15,00	12 giuguo	9,30	10 giugno	15.4
» » 5	teste	2,00	10 giugno	15,00	11 giugno	9,30	—	—

* L'orario dell'inizio delle fermentazioni è approssimativo.

Nei diversi campioni di mosto comunque trattati con gli esteri fosforici si è notata una decolorazione del liquido, che è stata più evidente nelle concentrazioni più elevate.

IV. — Ricerca dell'influenza del quantitativo di *Sacch. ellipsoideus* nei mosti trattati con esteri fosforici

Nell'indagine n. 2 si è avuto modo di rilevare che il processo fermentativo dei mosti trattati con esteri fosforici, determinato dal *Sacch. ellipsoideus*, inoculato nella dose avanti indicata, si è presentato assai più lento del campione-teste. La maggiore durata del processo si può ritenere dovuta, come è fatto presente in altra parte di questo lavoro, all'inibizione del lievito-vegetale (7) per opera dell'insetticida stesso.

Ritenendo, quindi, annullata questa proprietà del lievito ho voluto ricercare se, mantenendo la stessa dose di estere fosforico usata nelle precedenti prove, la durata del processo fermentativo venga variata con l'aumento del quantitativo di fermenti inoculati.

A tale riguardo è stata istituita la seguente prova:

in n. 5 bevute, della capacità di 500 cc., sono stati introdotti 250 cc. di mosto rosso sterilizzato con gradazione zuccherina (Fehling) del 18.80 %.

Seguendo il piano generale delle prove, già precedentemente illustrato, si è proceduto all'inoculazione del *Sacch. ellipsoideus* nei quantitativi di 2.00 e 4.00 cc. per litro di mosto, nei vari campioni.

Sebbene la prova non si sia potuta istituire nella forma più completa, cioè sottoponendo i campioni diversamente trattati all'aggiunta dei fermenti nei quantitativi di 2.00 e 4.00 cc./litro, tuttavia è risultato abbastanza evidente come la proporzione di cellule microbiche, esistenti nei liquidi, regoli la durata del processo fermentativo, anche in presenza di sostanze inibitorie.

Tabella V

ellipsoideus nei mosti trattati con esteri fosforici

2° trattamento		3° trattamento		Zuccheri al Fehling							
Giorno	Ora	Giorno	Ora	12-VI	16-VI	18-VI	22-VI	24-VI	28-VI	5-VII	10-VII
—	—	—	—	17,80	12,12	9,90	5,00	3,78	2,24	1,20	0,45
—	—	—	—	17,80	6,32	3,43	1,80	0,85	0,20	—	—
—	—	—	—	17,80	7,36	4,68	3,57	2,67	1,65	0,69	0,35
13 giugno	10,20	16 giugno	11,00	17,80	11,20	8,58	4,70	2,90	1,69	0,45	—
—	—	—	—	17,80	6,60	3,12	1,65	0,35	—	—	—

V. — Ricerca della diversità d'azione tra il *Sacch. ellipsoideus* e la flora blastomicetica naturale nei mosti trattati con l'insetticida

Riferendomi al nostro precedente lavoro (1) ho fatto cenno, nella premessa, all'influenza della natura del lievito nel processo fermentativo.

Nella prova in campagna lo svolgimento del processo stesso è avvenuto, almeno per le prime fasi, mercè l'intervento della complessa flora blastomicetica naturale che possiamo ritenere, per mancato esame microscopico, costituita da cellule microbiche dei generi *Saccharomyces, Torulospora, Pichia,* ecc.

La differenza che abbiamo notato nella durata della fermentazione nei vari campioni della prova a cui mi riferisco, porta a credere che il numero di cellule microbiche del *Sacch. ellipsoideus,* esistenti nei diversi campioni del gruppo *A* e del gruppo *B* della prova in campagna, sia stata, indipendentemente all'eventuale contemporanea presenza di altre forme di lieviti, superiore a quello delle cellule da me inoculate nei vari campioni in prova per le indagini che vado illustrando. Tale maggiore ricchezza di cellule di *Sacch. ellipsoideus* nelle prove di campagna di fronte a quelle effettuate in laboratorio ha determinato la diversità di durata del processo, facendolo risultare assai più breve nelle prime che nelle seconde.

Non è mancato, però, il caso, nella prova in campagna che, nel campione « vigilia della vendemmia » di entrambi i gruppi, il processo fermentativo si sia prolungato per un periodo di 40 giorni. In tal caso il comportamento dei fermenti non selezionati del gruppo *A* e di quelli selezionati, per azione dell'anidride solforosa, del gruppo *B* non si deve ritenere identico. Infatti risulta evidente che ciò è avvenuto per la maggiore ricchezza in zucchero del secondo campione e che facendo i debiti confronti sullo svolgimento del processo fermentativo, l'attività del fermento selezionato è stata nettamente superiore.

Da ciò si può constatare che l'azione del fermento ellittico è sempre più intensa di quella di altre forme, anche in presenza degli esteri fosforici.

VI. — Ricerca dell'azione della temperatura sull'attività fermentativa del *Sacch. ellipsoideus* nei liquidi trattati

La ricerca dell'azione della temperatura sull'attività del *Sacch. ellipsoideus* nei liquidi trattati con gli esteri fosforici, riveste una certa importanza dato che dette sostanze influiscono già su alcuni poteri del lievito.

La resistenza del lievito a temperature più o meno elevate varia a seconda che il *Sacch. ellipsoideus* sia in vita attiva o latente, allo stato vegetativo o sporificato.

Nel caso in esame il processo fermentativo dei vari campioni, trattati e non trattati, si è svolto alla temperatura costante di 25° C., *optimum* per lo sviluppo del *Sacch. ellipsoideus*.

Nei campioni trattati con dette sostanze insetticide, prima o dopo l'aggiunta dei fermenti, la temperatura di 25° C. ha determinato un rallentamento della fermentazione. Questo fenomeno deve essere attribuito al fatto che il *Sacch. ellipsoideus* già inibito nel suo potere vegetale, con detta temperatura diminuisce di molto il suo potere fermentativo. Tale ipotesi è sorretta dal fatto che nella prova in campagna — ed in entrambi i gruppi — il processo di trasformazione dello zucchero è avvenuto in tempo assai minore che non nella prova di laboratorio pur avendo eseguito alle uve dalle quali sono stati ottenuti i mosti gli stessi trattamenti e pur essendo avvenuta la fermentazione in entrambi i casi a temperature ambiente oscillanti da 21° a 4° C., con punte fino a 0°.

A sostegno di tale ipotesi sta anche il campione — teste, nel quale, non avendo aggiunto alcuna sostanza che potesse determinare delle variazioni sulla vita del lievito, il *Sacch. ellipsoideus* ha mostrato un attivo potere vegetale e fermentativo e la fermentazione è stata regolare.

Sarebbe stato interessante, se i mezzi a disposizione l'avessero permesso, poter determinare la temperatura *optimum* alla quale i mosti diversamente trattati sia nel quantitativo come nel tempo di esecuzione dei trattamenti, avrebbero presentato un processo fermentativo uguale o pressochè tale a quello dei mosti non trattati.

VII. — Ricerca dell'azione del substrato nutritivo sull'attività del lievito.

Ho ritenuto opportuno includere fra le varie indagini anche quella relativa all'azione del substrato nutritivo sul *Sacch. ellipsoideus*. Fin dall'inizio di questo studio ho seguìto l'andamento fermentativo dei due mosti in prova — bianco e rosso — in relazione alla loro composizione. Come si può constatare dai dati appresso riportati, il contenuto dei principali costituenti è risultato pressochè identico e la piccola differenza in più in estratto secco per 100, calcolato per via indiretta ed in acidità non hanno determinato variazioni sul comportamento del *Sacch. ellipsoideus*:

Tabella VI

Analisi	Mosti	
	Rosso	Bianco
Zuccheri al Babo a 15°	24,20	23,14
Zuccheri al Fehling	21,45	20,75
Estratto secco %	2,49	2,39
Acidità totale	7,98	6,00

È evidente che i due substrati, ai quali è stato aggiunto l'insetticida, hanno determinato un'azione identica sull'attività del fermento, anche se qualche altro componente dei mosti, non preso in considerazione, sia stato differente.

VIII. — Ricerca delle capacità alcooligene del *Sacch. ellipsoideus* nei mosti trattati con esteri fosforici.

Si è già fatto presente, nell'indagine n. 2, come le sostanze antisettiche influiscano sulle varie attività dei lieviti nella fermentazione alcoolica.

Il Libes, che nel suo studio, precedentemente citato (6), ha ricercato il rendimento dello zucchero in alcool nei liquidi trattati con DDT, così si esprime: « nei liquidi contenenti da 5 a 20 mgr. per 100 di DDT libero si ebbe un rendimento in alcool totale inferiore all' 1,96 % in rapporto al testimonio preso come base uguale a 100; con meno di 5 mgr. per 100 di DDT, nessuna diminuzione ebbe luogo. La produzione d'alcool per grammo di zucchero utilizzato non fu cambiata per l'addizione che va fino a 5 mgr. per 100 di DDT.

Un'addizione di 5 fino a 21 mgr. per 100 determina una riduzione dell'1,78 %, il testimonio era valutato uguale a 100. L'intensità della fermentazione dei liquidi trattati con DDT fu ritardata durante i primi 5 giorni d'incubazione; questo fu largamente ripreso dopo. Dei risultati simili, sono stati ottenuti quando i grappoli trattati con DDT contro gli insetti furono messi in fermentazione. Nelle analisi successive non fu trovato del DDT nel vino ottenuto con grappoli trattati ».

Benchè i due studi, quello del Libes ed il presente, siano stati istituiti con sostanze insetticide diverse e forse anche con un differente programma e procedura di sperimentazione, i risultati tendenti ad accertare le capacità alcooligene del lievito sono pressochè identici.

Già dalle indagini precedenti si è potuto rilevare la differente attività del *Sacch. ellipsoideus* innestato nei mosti trattati preventivamente o successivamente con estere fosforico. Proseguendo nelle prove è stato possibile, con la presente ricerca, poter determinare anche le capacità alcooligene del *Sacch. ellipsoideus* nei mosti trattati.

Per ricercare il potere alcooligeno del *Sacch. ellipsoideus* in questi ultimi e porli a confronto fra di loro, si è proceduto alla determinazione, per distillazione, dell'alcool di ogni singolo campione.

Tabella VII *

Ricerca delle capacità alcooligene del *Sacch. ellipsoideus*

Campioni **	Zucchero totale %	Zucchero residuo %	Differenza tra il totale ed il residuo %	Alcool teorico %	Alcool che si doveva ottenere %	Alcool ottenuto %	Zucchero variamente utilizzato
Bevuta n. 1	21,45	0,45	21,00	12,87	12,60	12,60	—
» » 2	21,45	1,04	20,41	12,87	12,25	12,25	—
» » 3	21,45	1,05	20,40	12,87	12,24	12,24	—
» » 4	21,45	0,90	20,55	12,87	12,33	12,33	—
» » 5	21,45	1,03	20,42	12,87	12,25	12,25	—
» » 6	21,45	0,37	21,08	12,87	12,65	12,65	—
» » 7	21,45	0,28	21,17	12,87	12,70	12,70	—

Ai dati della tabella faccio seguire una sommaria descrizione di tale potere.

In considerazione che il campione-teste (bevuta n. 7) ha avuto un processo fermentativo regolare ed anche la capacità del lievito a trasformare lo zucchero in alcool è stata notevole, antepongo l'esame di questo campione a quello dei campioni trattati, perchè risalti maggiormente la diversa trasformazione dello zucchero in alcool.

Campione n. 7. — Il mosto ha terminato rapidamente il processo fermentativo ed anche la trasformazione dello zucchero in alcool è stato del 98.70 %, assegnando nel presente studio, all'alcool teorico (12.87) il valore 100.

Campione n. 1. — L'azione dell'estere fosforico in questo campione non ha determinato deviazioni di rilievo nel processo fermentativo e l'attività del *Sacch. ellipsoideus* è cessata a circa 0.5 % di zucchero. In conseguenza di ciò la trasformazione dello zucchero in alcool è stato del 97.12 %.

Campione n. 2. — Questo campione, come quelli trattati successivamente all'inoculazione del lievito, ha arrestato il processo fermentativo ad un contenuto

* Lo schema della tabella è stato tratto dal lavoro di T. Castelli (2).
** I campioni elencati si riferiscono ai medesimi descritti nella tabella I.

zuccherino dell'1.04 %, di modo che la capacità dell'alcoligena del *Sacch. ellipsoideus* è stata molto inferiore al valore base di 100 e precisamente del 95.18 %.

Campione n. 3. — Leggermente più elevata è stata la percentuale di zucchero non fermentato rilevato in questo campione, in conseguenza anche la percentuale d'alcool del vino è stata ridotta al 95.10 %.

Campione n. 4. — Tale campione ha avuto un processo fermentativo leggermente più completo dei tre precedenti e di conseguenza anche la percentuale di alcool è stata sensibilmente più elevata giungendo al 95.72 %.

Campione n. 5. — Per quanto riguarda questo campione non si ha che ripetere quanto è stato detto per i nn. 2, 3. L'alcool ottenuto è stato del 95.18 %.

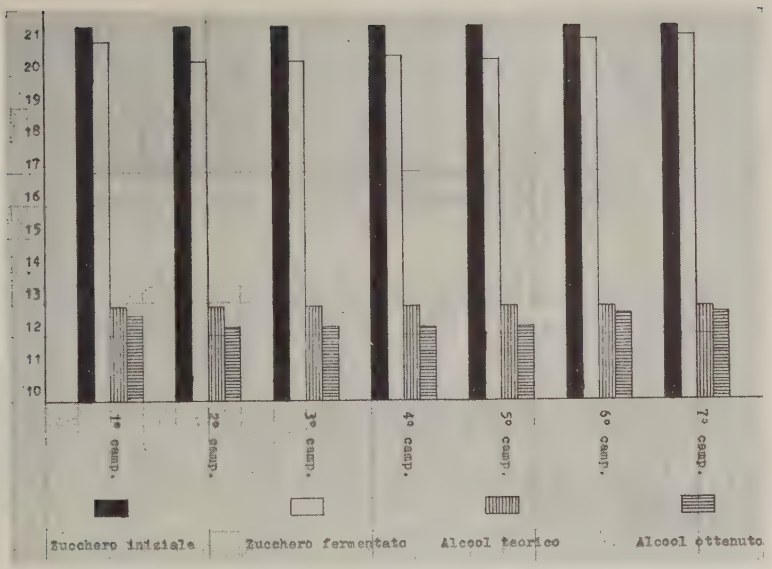
Campione n. 6. — Questo campione ha riunito in sè le varie prove riguardanti il comportamento del lievito sullo studio di cui trattasi.

Il trattamento precedente all'inoculazione ha fatto sì che la fermentazione si iniziasse subito. Tale fenomeno non si deve attribuire ad una rapida riproduzione del lievito, ma ad una esaltazione delle sue proprietà fermentative. Proprietà che sono state maggiormente esaltate con i trattamenti successivi di modo che il lievito ha reagito all'inibizione del potere vegetativo, e la trasformazione dello zucchero in alcool è stata elevata giungendo al 98.36 %.

Come si può rilevare dal grafico che segue, il rendimento della fermentazione alcoolica è stato, nello studio in corso, elevato avendo raggiunto nel campione-teste il 98,70 % del teorico dell'alcool. Tale valore è disceso a 98,36 ed a 97,12 % nei campioni trattati precedentemente all'aggiunta dei fermenti: rispettivamente al 95,12, 95,10, 95,72 e 96,18 % nei campioni trattati successivamente all'aggiunta del *Sacch. ellipsoideus*.

Da ciò si può rilevare come la fermentazione alcoolica, sebbene fortemente rallentata e prolungata dall'azione degli esteri fosforici, sia stata regolare e non siano manifestate fermentazioni anormali.

È da tenere presente che nella percentuale d'alcool, ottenuto dalla fermentazione dello zucchero, ci siano da considerare anche altri alcool quali l'alcool metilico, propilico, isopropilico, butilico, ecc. la cui formazione è stata argomento di vari studi. Nel caso in esame si può senz'altro ritenere — come riporta il Verona (8) — che tali alcoli sebbene non rilevati esistono e derivano da scomposizioni susseguenti la cessazione di attività e la morte dei fermenti. Infatti, come abbiamo potuto rilevare precedentemente, l'attività fermentativa del *Sacch. ellipsoideus,* in presenza degli esteri fosforici, si è arrestata in alcuni campioni quando ancora questi contenevano una percentuale di zucchero che si aggirava intorno all' 1 %. Cessazione di attività che si deve attribuire alla morte del lievito per azione dell'insetticida unita all'azione antisettica dell'alcool.



IX. — Ricerca del comportamento del *Sacch. ellipsoideus* inibito nel potere vegetale, in mosti non trattati con esteri fosforici.

A completamento delle varie indagini descritte, ho ritenuto di indagare (a semplice titolo orientativo, dato che tale ricerca è stata effettuata solamente nell'ultima prova, mentre le altre sono state ripetute ben 4 volte, con identico risutato), il comportamento del *Sacch. ellipsoideus* inibito nel suo potere vegetale, in mosti non trattati con esteri fosforici

È caratteristica di tutti i fermenti che, qualora cessi la causa inibitoria di uno dei due suoi poteri, riprendano in pieno la loro attività.

A controllare quanto sopra e soprattutto quale fosse la potenza inibitoria degli esteri fosforici sul *Sacch. ellipsoideus* è stata effettuata la seguente prova: si sono allestite 4 bevute da 400 cc. con tappo di gomma con valvola di Muller ad acido solforico. In ciascuna bevuta sono stati messi 250 cc. di mosto sterile, avente il 24,30° di zucchero, e subito dopo vennero inoculati 2 cc. (corrispondenti a 8 cc. litro) di deposito ricavato da altri campioni direttamente trattati e fermentati. In tale modo si è ritenuto che il lievito fosse allo stato inibitorio, per quanto si riferisce al potere vegetale, ed allo stato affamato per la deficenza di sostanze nutritive residue dalle fermentazioni.

Nel constatare il processo fermentativo dei campioni in esame è stato seguito il metodo della pesata indiretta giornaliera di ogni bevuta.

L'analisi della tabella VIII ci mostra che in tutti e quattro i campioni in esame la fermentazione non ha avuto inizio e tale stato deve essere attribuito all'azione inibitoria degli esteri fosforici sul potere vegetale del lievito ed all'azione antifermentativa dell'alcool, ottenuto dalla trasformazione del mosto in vino nei campioni precedentemente trattati.

Tabella VIII

Campioni	21-VI	22-VI	23-VI	25-VI	28-VI	Note
Bevuta n. 1	481,47	481,47	481,47	481,47	481,47	Il numero dei campioni in esame corrisponde a quello dei campioni trattati con esteri, come da tabella I.
» » 2	484,35	484,35	484,15	484,35	484,35	
» » 3	463,81	463,81	463,81	463,81	463,81	
» » 6	496,40	496,40	496,40	496,40	496,40	

Non deve essere escluso il fatto che sia subentrato qualche altra azione che abbia ucciso i fermenti.

Conclusioni

Dalle varie ricerche condotte è risultato che:

1) L'attività del *Sacch. ellipsoideus* nei mosti contenenti estere fosforico libero è accelerata nel primo periodo del processo fermentativo e rallentata in seguito fino a cessare completamente con la morte del lievito stesso, prima che la trasformazione dello zucchero sia stata totale. Nei mosti trattati da Libes con il DDT l'attività del *Sacch. ellipsoideus* risulta invece pressochè nulla nei primi giorni, ma viene accelerata in seguito in maniera da annullare tale ritardo. Anche in questo caso la fermentazione non è completa. Dai debiti confronti si può concludere che l'azione del DDT sul fermento è più sensibile di quella dell'estere fosforico, facendo arrestare il processo con dosi minori d'insetticida.

2) Il *Sacch. ellipsoideus* in presenza degli esteri fosforici inibisce il potere vegetale ed esalta il potere fermentativo.

3) La resistenza del *Sacch. ellipsoideus* all'azione degli esteri fosforici è molto superiore a quella presentata per il DDT.

4) L'azione degli esteri fosforici è inversamente proporzionale alla quantità di *Sacch. ellipsoideus* presente nei mosti.

5) L'attività del *Sacch. ellipsoideus* nei mosti trattati con esteri fosforici è maggiore a bassa temperatura che a quella di 25° C, ritenuta ottima nei mosti non trattati.

6) La diversa composizione dei substrati nutritivi, ugualmente trattati con esteri fosforici, non ha alcuna influenza sull'attività del fermento.

7) La capacità alcooligena del *Sacch. ellipsoideus,* che non viene diminuita dall'azione degli esteri fosforici, è direttamente proporzionata allo zucchero fermentato o non determina fermentazioni anormali.

Da quanto si è finora esposto si può concludere che gli esteri fosforici nei mosti manifestano una leggera azione negativa facendo prolungare la durata del processo fermentativo ed arrestandolo quando ancora nel liquido si trova una certa percentuale di zucchero. Nel campo pratico tale azione negativa risulterà senza dubbio sensibilmente diminuita ed il processo fermentativo, salvo qualche eccezione, risulterà normale dato che il trattamento con l'estere fosforico non viene fatto sul mosto ma sull'uva ed alcuni giorni prima della vendemmia. Una lotta razionale e tempestiva non dovrebbe d'altra parte richiedere ulteriori interventi alla vigilia della vendemmia anche in annate di forti infestioni del parassita.

RIASSUNTO

L'A. esamina qui il comportamento del *Saccharomyces ellipsoideus* nei mosti trattati con esteri fosforici.

Nelle varie indagini eseguite considera l'attività di questo *Saccharomyces* nei confronti dei poteri fermentativo e riproduttivo, della resistenza a dosi elevate di esteri fosforici, dell'influenza del quantitativo di fermenti, della temperatura, del substrato nutritivo e della capacità alcooligena del *Sacch. ellipsoideus.*

Fatte le debite riserve circa il comportamento del *Sacch. ellipsoideus* arrestato nel suo potere vegetale dagli esteri fosforici e reinnestato ai mosti non trattati, l'A. termina concludendo che gli esteri fosforici, che già hanno dimostrato una buona efficacia nella lotta contro la cocciniglia cotonosa della vite (*Pseudococcus vitis*), nessuna particolare azione negativa presentano nei riflessi della fermentazione alcoolica delle uve trattate con i medesimi, per cui il loro impiego può essere raccomandato anche sotto questo particolare aspetto.

SUMMARY

INVESTIGATIONS ON THE BEHAVIOUR OF *SACCHAROMYCES ELLIPSOIDEUS* IN THE COURSE OF THE ALCOHOLIC FERMENTATION OF MUSTS TREATED WITH PHOSPHORIC ESTERS

by Giuseppe Pieri

The behaviour of *Saccharomyces ellipsoideus* in the musts treated with phosphoric esters is examined.

In the various investigations made, the activity of this *Saccharomyces* is considered in regard to fermentative and reproductive powers, the resistence to elevated doses of phosphoric esters, the influence of the quantity of ferments, the temperature, the nutritive medium and alcohologenic capacity of *Sacch. ellipsoideus.*

With slight reservations in regard to the behaviour of *Sacch. ellipsoideus* arrested in its vegetal power by the phosphoric esters and re-inserted into nontreated musts, the author concludes that the phosphoric esters, which have already demonstrated a high efficiency in the control of the mealy bug of the vine (*Pseudococcus vitis*), present no particular negative action in the reactions of the alcoholic fermentation of grapes treated with the same, for which reason their employ can be recommended from this point of view also.

BIBLIOGRAFIA

(1) Pieri, G., e De Rosa, T. Studio dell'eventuale azione degli esteri fosforici sulla fermentazione alcoolica. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1951, n. s., vol. V.

(2) Castelli, T. Indagini sulla vinificazione con fermenti selezionati in ambiente solforoso. *Annali della Facoltà Agraria dell'Università degli Studi di Perugia,* 1948, vol. V.

(3) Carpentieri, F. Enologia tecnico-pratica. Casale Monferrato, Ottavi, 1948, vol. I.

(4) Castelli, T. I lieviti della fermentazione vinaria del Piceno. *Annali della Facoltà di Agraria dell'Università di Perugia,* 1947, vol. IV..

(5) De' Rossi, G. Microbiologia agraria e tecnica. Roma, R.E.D.A., 1950, vol. I.

(6) Libes, R. Action du DDT sur la fermentation alcoolique. *Le Progrès Agricole et Viticole,* 1947, nº 43.

(7) Peglion, V. Biologia agraria. Milano, U. Hoepli, 1928.

(8) Verona, O. Microbiologia delle fermentazioni e microbiologia industriale. Firenze, Macrì, 1950.

Ricevuto il 27 luglio 1951.

STAZIONE SPERIMENTALE DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA
(Direttore: Italo Cosmo)
CONEGLIANO

E

ISTITUTO SPERIMENTALE DEI METALLI LEGGERI
(Direttore: Carlo Panseri)
MILANO

L. Gentilini e G. Missier

L'ALLUMINIO E ALCUNE SUE LEGHE IN ENOLOGIA

Le sostanze se sono acide anche per semplice acidità organica, tendono sempre a presentare una certa aggressività verso i corpi metallici con cui vengono a contatto. Il fatto riveste un notevole interesse specie quando si tratta di sostanze di carattere bromatologico, in cui, cioè, l'integrità organolettica dev'essere rispettata non solo per motivi commerciali, ma essenzialmente per esigenze sanitarie.

Così dicasi del latte, dell'olio, del vino, del succo d'uva, delle conserve in genere e di qualunque succo vegetale che debba, dopo opportuni trattamenti, venire immesso nel consumo alimentare. Pertanto, assume particolare importanza la qualità del materiale da adibire alla costruzione di attrezzi di lavorazione, di parti metalliche di un qualsiasi impianto che siano destinate a venire a contatto col prodotto in preparazione, di recipienti di conservazione e di trasporto.

Le industrie agrarie sono molto interessate al problema. E la preoccupazione circa l'aggredibilità del materiale cresce specie là dove si presentano condizioni che favoriscono il fenomeno, come una temperatura superiore all'ordinaria, il perdurare del contatto, l'elevarsi della superficie specifica, la presenza di SO_2, ecc.

Il vetro e la porcellana sarebbero materiali di ideale inattaccabilità nella preparazione dei prodotti alimentari, se non intervenissero fattori negativi quali la fragilità e il costo. Dal canto suo la tecnica costruttiva si è rivolta principalmente a leghe metalliche o a metalli, a metalli o a leghe la cui superficie viene protetta con rivestimenti ai quali si affida la difesa dall'attacco chimico; si annoverano così protezioni metalliche, protezioni organiche ottenute con vernici diverse comprese quelle di resine artificiali, protezioni non metalliche inorganiche quali il cemento, lo

smalto, il vetro, protezioni, nel caso delle leghe leggere, di strati di ossidi ottenuti con procedimenti chimici ed elettrochimici.

In mezzo a così vasto assortimento di supporti e di protettivi, il costruttore è sollecitato alla scelta dalla necessità di realizzare, nel materiale lavorato, una spiccata inerzia chimica non disgiunta, a seconda dei casi, da coibenza o da conducibilità termica, da resistenza alle sollecitazioni meccaniche, da un modico peso specifico, da un costo conveniente e così via.

Quali sono i materiali a cui si ricorre nelle attrezzature di industrie agrarie fondamentali?

Nell'industria lattiera è frequente l'uso di metalli smaltati per vasche e serbatoi di trasporto, come larga è la diffusione dello stagno a rivestimento del ferro e del rame. Anche l'alluminio, per la sua facile lavorabilità unita al basso peso specifico, vi ha trovato facile strada. Non mancano leghe speciali di bronzo, come il bronzo fosforoso per pompe, e metalli costosi, come l'argento in argentature galvaniche, il nichel, ecc.

Nell'industria olearia sono segnalabili la ghisa e l'acciaio per pile, per frantoietti e torchi, lo stagno protettivo per màdie, sottini, fusti di trasporto, reti di nichel come nell'estrattore Acapulco, ecc.

Nell'industria enologica si va dall'uso del rame stagnato per filtri, dal rame argentato per certi pastorizzatori tubolari, alla ghisa di pastorizzatori a piastre, al ferro smaltato, all'acciaio inossidabile, a metalli con vernici organiche per frigoriferi, al bronzo, alle leghe leggere per sportelli di vasche, ecc.

Vi sono materiali che rispondono pienamente alle esigenze di un determinato impiego ed altri che non vanno immuni da pecche, donde l'incessante sprone alla ricerca di nuove leghe, di nuovi rivestimenti che riassumano, nella forma migliore, requisiti fisici, chimici, economici.

Grande simpatia godono oggi, specie nell'industria enologica, l'alluminio ossidato, il nichel ed il cromo come protettivi, certe leghe estere come l'inconel a base di nichel, cromo e ferro, certi acciai inossidabili. Si tende anche all'uso di leghe leggere rivestite di particolari vernici organiche sintetiche.

Studî riguardanti il comportamento dell'alluminio e di sue leghe, protette o no da vernici organiche, sono stati effettuati presso la Stazione sperimentale di Viticoltura e di Enologia di Conegliano in collaborazione con l'Istituto sperimentale dei Metalli Leggeri di Milano. Non è certo la prima volta che nella letteratura enologica si è portata l'attenzione sulla resistenza di pareti metalliche di diversa natura all'attacco acido del vino. Così han fatto Magnien, Payen, Sartou, Stummer, Benvegnin e Copt, Chasselas ed altri ancora. In modo particolare l'alluminio è

stato oggetto di studio da parte di Carpenè, Cabella, Schuck, Seligmann e Williams, Trillat, ecc.; chi ne ha detto bene e chi male e chi ha attribuito la corrodibilità dell'alluminio a certe impurezze quali il rame.

Dal canto nostro abbiamo condotto esperienze allo scopo di precisare l'aggredibilità di fronte al vino dell'alluminio puro, di titolo 99,5 e di leghe leggere quali l'Aluman, il Peraluman 35, l'Anticorodal. Nelle prove sono state usate lastrine delle dimensioni di 90 × 10 × 1 mm. con una superficie di 2000 mm^2.

Prima di essere immersi nel vino tali provini sono stati sgrassati in apparecchio Soxhlet con benzolo, quindi decappati, per togliere lo strato di ossido naturale, in una soluzione di CrO_3 al 2 % in peso e di H_3PO_4 al 3,5 % in volume, per 5 minuti, alla temperatura di ebollizione e infine lavati accuratamente, essiccati in stufa a 100° C per 10', e pesati. I campioni, posti a contatto del vino, sono stati studiati in dipendenza di tre fattori: acidità dell'ambiente, temperatura, durata di contatto.

Pertanto si sono usati tre tipi di vino di cui uno bianco (Prosecco) ed uno rosso (Merlot) ad acidità totale modica ed un terzo rosso, ricchissimo di acidità (Raboso di Piave). I vini, con le lastrine venivano chiusi in bottiglia di vetro da circa 450 cc. e tenuti mediante termostato a 20° C per 30 giorni e a 40° C per periodi di 7, 15 e 30 giorni.

Riportiamo riassunti nelle due seguenti tabelle le perdite in peso del materiale:

Perdita di peso in gr./dm^2/mese a 20°C

Materiale	In Prosecco	In Merlot	In Raboso di Piave
Al 99,5	0,013	0,017	0,022
Aluman	0,015	0,018	0,023
Peraluman 35 . .	0,017	0,023	0,030
Anticorodal	0,016	0,024	0,030

Perdita di peso in gr./dm^2 a 40°C

Materiale	In Prosecco			In Merlot			In Raboso di Piave		
	7 g.	15 g.	30 g.	7 g.	15 g.	30 g.	7 g.	15 g.	30 g.
Al 99,5	0,03	0,053	0,09	0,028	0,028	0,028	0,04	0,063	0,11
Aluman	0,03	0,05	0,095	0,025	0,031	0,031	0,048	0,095	0,15
Peraluman 35 .	—	0,073	0,10	0,03	0,03	0,03	0,05	0,105	0,15
Anticorodal . .	0,035	0,055	0,12	0,035	0,035	0,037	0,042	0,091	0,15

Dai valori ottenuti si riscontra che l'aggredibilità è comune a tutti i materiali sottoposti alle prove; sia a 20° che a 40° C, dopo un mese di contatto, essa risulta aumentare lievemente dall'Al 99,5, all'Aluman, al Peraluman 35, all'Anticorodal.

L'influenza della temperatura di contatto è forte. In 30 giorni a 40° C le perdite in peso superano quelle a 20° C di 5-6-7 volte; fanno eccezione i risultati ottenuti col Merlot, dove l'esaltazione delle perdite si riduce ad una volta e mezza soltanto.

Ma tale anomalia, considerato che il Prosecco e il Merlot hanno quasi analoga acidità e che sono stati sottoposti ad identica normale dose di antifermentativo (SO_2) durante il processo di vinificazione, si può spiegare considerando che il Prosecco (vino bianco) è stato fermentato in bianco ed il Merlot in presenza di vinacce. La vinificazione in bianco esclude rimontaggi e follature, operazioni, cioè, che provocano dispersione di SO_2, per cui l'attacco più intenso del Prosecco rispetto a quello del Merlot è con tutta probabilità da imputarsi alla maggior quantità di SO_2 presente la cui azione si è manifestata (per l'azione catalitica del calore) a temperatura superiore all'ordinaria (nel nostro caso, a 40° C). Il Raboso di Piave, anch'esso vino rosso e quindi posto nelle stesse condizioni del Merlot, ha superato nell'attacco il Prosecco, in virtù della sua forte acidità naturale.

Anche la durata di contatto, come del resto era prevedibile, ha avuto la sua influenza.

In 23 giorni la perdita in peso dei varî materiali si è in media triplicata, fatta eccezione per le prove con Merlot. Qui le lievissime variazioni dei risultati ottenuti nel tempo sarebbero spiegabili con l'ammettere che l'acidità modica, non rinforzata dalla presenza di SO_2, si sia facilmente neutralizzata, e quindi spenta nella sua forza di attacco. Comunque, i campioni esaminati non sono raccomandabili, qualora in un'eventuale applicazione enologica dovessero venire a contatto col vino.

L'aggredibilità del materiale rende il vino facile ad arricchirsi di ioni metallici la cui azione catalitica compromette sovente la stabile limpidezza dei vini e ne altera anche il gusto.

I nostri vini, infatti, dopo il contatto con i provini, sia a 20° che a 40° C, si sono presentati alla degustazione con un sapore metallico, che li rendeva decisamente inadatti al consumo.

Dopo l'esito negativo fornito dai materiali esaminati, siamo passati allo studio degli stessi, non più allo stato nudo ma protetti, allo scopo di

indagare se con tale rivestimento potevano servire per la costruzione di recipienti destinati a conservare il vino. A tal uopo sono state impiegate delle speciali bottiglie (fig. 1) di un litro di capacità, fabbricate su disegno dell'Istituto sperimentale dei Metalli Leggeri di Milano dalla Società Guinzio e Rossi di Torino con gli stessi materiali delle lastrine precedentemente sperimentate.

Fig. 1. – Disegno quotato delle bottiglie.

Di analogo materiale era anche il tappo, posto in sede a pressione mediante una apposita maniglia a T, svitabile dopo l'operazione. A bottiglie riempite, veniva colata sopra il tappo della cera per rendere ermetica la chiusura.

Di questi recipienti, parte erano stati ossidati mediante il processo chimico MBV e quindi verniciati con resina fenolica termoindurente e parte ossidati anodicamente secondo il processo Alumilite e quindi verniciati come sopra.

Le bottiglie, però, così preparate, risultavano odoranti di resina; il che ci ha indotti a sottoporle a lavaggi con acqua e quindi a lasciarle in macero acquoso per alcuni giorni. Gli sciacquii e la macerazione hanno ridotto, ma non tolto completamente l'odore. L'inconveniente pregiudicava ogni nostro proposito d'indagine. Infatti, a semplice titolo esplorativo, abbiamo riempito una delle bottiglie con vino e lasciato il tutto per alcuni giorni a temperatura di cantina. Il vino rimasto a contatto con la vernice si era talmente alterato nell'odore e nel sapore, da considerare inutile ogni ulteriore prova in merito.

A completamento delle suddette indagini, che hanno portato a risultati nulli, abbiamo istituito altre esperienze, usando questa volta dei recipienti di Aluman verniciati internamente con la resina fenolica termoindurente Periplast fornita dalla Soc. An. Castiglioni di Milano. Le bottiglie impiegate erano di identica capacità, forma e funzionamento di quelle precedenti. Tali bottiglie, prima della verniciatura interna, sono state ossidate chimicamente mediante il sistema MBV. La verniciatura è avvenuta per riempimento e svuotamento, ripetendo l'operazione due volte. La prima mano è stata eseguita impiegando smalto Periplast A-331 M (pigmentato) che è poi stato trattato in forno a 120° C per 30 minuti. Per la seconda mano è stato usato smalto Periplast A-332 che è stato successivamente trattato in forno a 180° C per 120 minuti.

Le bottiglie così preparate sono state lasciate varî giorni in acqua, perchè perdessero ogni odore anomalo e quindi sono state riempite di vino (Raboso di Piave) il quale prima dell'imbottigliamento rispondeva ai seguenti requisiti chimici e organolettici:

Alcool	cc.	12,50 %
Acidità totale (in acido tartarico)	gr.	10,35 ‰
Acidità volatile (in acido acetico)	gr.	0,62 ‰
Sostanze tanniche e coloranti	gr.	2,75 ‰
SO_2 totale	gr.	0,037 ‰
SO_2 libera	gr.	0,05 ‰
Estratto secco	gr.	29,70 ‰

limpidissimo, di colore rosso rubino intenso, con spiccata fragranza vinosa, gradevole, asciutto, tannico, un po' troppo acido, alcoolico; giudicabile come un buon vino da taglio.

Il vino è rimasto nei recipienti tappati un mese circa alla temperatura di 14°-16° C. Dopo di che, sottoposto a degustazione collegiale pre-

FIG. 2. – Aspetto della parte interna di una bottiglia sezionata subito dopo lo svuotamento.

FIG. 3. – Aspetto della parte interna di una bottiglia sezionata dopo lavaggio con acqua.

sieduta dal prof. Cosmo, ha presentato inalterate le caratteristiche che possedeva prima della prova.

I recipienti vuotati ed esaminati apparivano in perfetto stato di conservazione nel loro aspetto esteriore. Allo scopo poi di esaminare lo stato della vernice, le bottiglie sono state sezionate longitudinalmente (figg. 2 e 3). La vernice si mostrava ricoperta da una patina rosso-bruna, scarsamente coerente che poteva essere facilmente rimossa per semplice lavaggio

con acqua; messa così a nudo la vernice sottostante, essa appariva inalterata anche nel suo primitivo colore.

Pertanto, data la nessuna alterazione organolettica subìta dal vino e l'assenza di ogni segno di corrosione da parte del rivestimento, si può a buona ragione affermare che l'Aluman protetto da Periplast può essere impiegato soddisfacentemente nell'industria enologica per il trasporto e la conservazione del vino. E poichè detto comportamento è dovuto alla azione protettiva della vernice impiegata e non alla particolare composizione della lega, si può dedurre che i felici risultati ottenuti dalle suaccennate prove orientative siano estensibili a qualunque tipo di lega leggera o al metallo puro, purchè la preparazione della superficie per la verniciatura sia stata accurata.

È da notare inoltre che la vernice Periplast aderisce tenacemente e perfettamente alla parete del supporto metallico e non è fragile. Ciò rende il rivestimento resinoso resistente a tutti gli urti che dovessero eventualmente subire i recipienti verniciati durante il loro trasporto.

RIASSUNTO

Allo scopo d'indagare sulla possibilità di impiego, in enologia, dell'alluminio puro e di alcune sue leghe, è stato studiato il comportamento di fronte al vino, dell'alluminio puro di titolo 99,5 e di leghe leggere quali l'Aluman, il Peraluman 35, l'Anticorodal, sia allo stato crudo, sia verniciati con resine fenoliche termoindurenti, previa ossidazione secondo il processo chimico MBV o previa ossidazione anodica secondo il processo Alumilite.

Le prove sono state condotte, in parte, in dipendenza della durata di contatto, della temperatura, dell'acidità del vino.

Solo i risultati ottenuti con l'Aluman, ossidato chimicamente mediante sistema MBV e verniciato con resina termoindurente Periplast, sono stati soddisfacenti; così da far ritenere detto rivestimento il più adatto a proteggere i recipienti d'alluminio o di qualunque lega leggera destinati al trasporto e alla conservazione del vino.

SUMMARY

ALUMINUM AND SOME OF ITS ALLOYS IN OENOLOGY

by L. Gentilini and G. Missier

With the object of investigating the possibility of employing pure aluminum and some of its alloys in oenology, a study has been made of the behaviour in the presence of wine of 99.5 % pure aluminum and of such light alloys as Aluman, Peraluman 35, and Anticorodal, either in the natural crude state or painted with phenolic thermo-indurative resins, after oxidation by the MBV chemical process or after anodic oxidation by the Alumilite process.

The tests have been conducted, in part, dependent upon the duration of contact, of temperature and of the acidity of the wine.

Only the results obtained with Aluman, oxidized chemically by the MBV system and painted with thermo-indurative resin Periplast, have been satisfactory; this said covering is held to be the best adapted to protect the aluminum or light alloy recipients destined for the transport and the conservation of wine.

Ricevuto il 30 luglio 1951.

LABORATORIO DI ZOOTECNIA
(Direttore: Renzo Giuliani)
FIRENZE

Elvio Borgioli

CONTRIBUTO SPERIMENTALE ALLO STUDIO DELLA LATTAZIONE ARTIFICIALE NELLA SPECIE BOVINA, PROVOCATA MEDIANTE TRATTAMENTI ORMONICI

Fra le applicazioni della biologia moderna a problemi concreti dell'allevamento e della produzione animale, l'induzione artificiale della secrezione lattifera, realizzata mediante opportuni trattamenti ormonici, è senza dubbio una delle più interessanti, perchè ci consente — dal punto di vista strettamente scientifico — una migliore conoscenza del complesso meccanismo ormonico che presiede allo sviluppo della ghiandola mammaria ed alla sua entrata in funzione; mentre dal lato tecnico ed economico fa intravedere delle possibilità applicative, in quanto mediante tali trattamenti (una volta risolti i problemi di dosaggio e la tecnica di somministrazione) sarà possibile ottenere da manze e bovine sterili produzioni lattifere non trascurabili, e forse anche si potrà promuovere un anticipato sviluppo istologico e funzionale della mammella, con incremento produttivo nella lattazione delle bovine primipare. L'avvenire dirà se queste previsioni sono utopistiche o realizzabili in tutto o in parte; ma comunque è certo che i risultati già ottenuti da vari ricercatori — biologi puri e zootecnici — rappresentano molto più di una semplice curiosità scientifica, e debbono far meditare con la loro evidenza quanti si interessano seriamente ai problemi zootecnici.

La trattazione del presente argomento richiederebbe per il lettore non specializzato una lunga esposizione introduttiva, necessaria per chiarire gli aspetti più importanti dell'endocrinologia della riproduzione nelle femmine domestiche e dei fattori ormonici che controllano lo sviluppo delle ghiandola mammaria e la secrezione del latte. Rimandando per tali argomenti ad una nostra precedente pubblicazione (3) ed all'ampia ed esauriente trattazione fatta da Usuelli (48), ci limiteremo a riassumere quanto è essenziale ed ormai acquisito in materia di regolazione ormonica dello sviluppo mammario e della secrezione lattifera, secondo le ricerche moderne ed i trattatisti più autorevoli (Turner, 1949).

1. — I fattori dello sviluppo mammario e della secrezione lattea

Il quadro dello sviluppo e dell'entrata in funzione della mammella è, nelle sue linee generali, il seguente. Alla nascita (la descrizione si riferisce alla bovina) la ghiandola mammaria consta di un semplice abbozzo della cisterna e dei futuri condotti galattofori. All'inizio del periodo di pubertà il sistema dei dotti manifesta un discreto sviluppo, che diviene marcato dopo il concepimento, accompagnandosi alla contemporanea formazione degli acini ghiandolari. In base ad accurate ricerche, Turner e Frank (46) affermano che lo sviluppo istologico del parenchima mammario nella vacca è pienamente raggiunto al quinto mese della prima gravidanza. In seguito, le cellule epiteliali degli alveoli entrano progressivamente in una particolare forma di attività, versando la loro secrezione (precolostro) nel lume alveolare, provocando così gradualmente la distensione ed il riempimento degli alveoli stessi. L'inizio della secrezione pre-colostrale si traduce perciò in un progressivo ingrossamento della mammella man mano che ci si avvicina all'epoca del parto; ingrossamento che da alcuni fisiologi è stato erroneamente considerato come il risultato dell'intenso accrescimento dei tubuli degli alveoli ghiandolari. Ma quale è il meccanismo endocrino che promuove lo sviluppo e la differenziazione strutturale della mammella?

Nel 1937, Gomez e Turner (16), in base ad esperienze compiute su ratte private dell'ipofisi e su coniglie castrate, annunziarono la scoperta di un ormone mammogenico elaborato dal lobo anteriore dell'ipofisi ed estraibile con alcool-etere. In realtà, molti tentativi fatti in precedenza per provocare sperimentalmente lo sviluppo della mammella mediante ormoni sessuali femminili in animali privati di ipofisi erano rimasti infruttuosi, mentre gli autori precitati riuscirono ad ottenere un buono sviluppo mammario mediante estratti alcool-eterei di preipofisi, in aggiunta agli ormoni ovarici. Turner ed i suoi collaboratori svilupparono così il concetto che gli ormoni estrogeni — dei quali è nota da molto tempo l'azione stimolante sull'accrescimento del sistema tubulare mammario — agiscono stimolando l'ipofisi alla secrezione dell'ormone mammotropo. Questa teoria non è più accettabile integralmente in base alle conoscenze attuali, poichè abbiamo ormai prove sicure della azione diretta degli ormoni estrogeni sulla mammella, in quanto le applicazioni percutanee ripetute, con estrogeni in soluzione oleosa, e localizzate ad alcune mammelle delle coniglie, cavie e ratte, determinano accrescimento e sviluppo istologico delle ghiandole trattate, senza che si verifichino modificazioni rilevabili nelle mammelle che non hanno subìto trattamento. Poichè d'altronde l'esistenza di un principio mammotropo ipofisario ha ricevuto numerose conferme (e si è potuto stabilire, ad esempio, che il potere mammogeno della preipofisi di vacche lattifere è molto maggiore di

quello posseduto dall'ipofisi di vacche di razze da carne), sembra legittimo concludere che lo sviluppo e la differenziazione delle mammelle richieda l'azione sinergica tanto degli ormoni ovarici (estrogeni stimolatori dell'accrescimento tubulare, progesterone stimolatore dello sviluppo alveolare) quanto degli ormoni ipofisari. « I dati sperimentali attuali — scrive C. D. Turner — possono essere interpretati in modo soddisfacente ammettendo che gli estrogeni agiscano direttamente sullo sviluppo e differenziazione mammaria, ma che tale stimolo risulti più intenso e completo in presenza degli ormoni (specifici o meno) elaborati dal lobo anteriore dell'ipofisi ». Quanto all'azione degli ormoni sessuali, è stato dimostrato che nella capra, e quindi probabilmente anche nella vacca, gli estrogeni da soli sono capaci di provocare lo sviluppo e la differenziazione istologica tanto dei tubuli che degli acini ghiandolari, mentre nella ratta castrata (Selye, 1940) il trattamento prolungato con forti dosi di solo progesterone, porta ad un completo sviluppo della mammella. È comunque certo che nella maggior parte delle specie, lo sviluppo tubulo-alveolare del parenchima mammario è assicurato dalla collaborazione dell'ormone mammogeno ipofisario con gli estrogeni prodotti dall'ovaia e dalla placenta durante la gestazione, a cui segue l'azione del progesterone prodotto dal corpo luteo.

La regolazione ormonica della secrezione lattifera presenta un quadro complesso di azioni endocrine, fra le quali assolutamente preminenti quelle esercitate dal lobo anteriore dell'ipofisi. Secondo l'opinione di Allen, Turner e di altri autori, la secrezione del latte è la risultante fisiologica dell'azione di distinti ormoni ipofisari: uno di essi, la prolattina, agisce specificamente sull'epitelio mammario, mentre gli altri sono ormoni regolatori del metabolismo dei protidi, dei grassi e dei glucidi, e quindi indispensabili bioregolatori delle sintesi che avvengono negli alveoli ghiandolari durante la secrezione. La prolattina, come è noto, venne isolata e dimostrata nel 1930 dal Riddle (38) e dai suoi collaboratori, che riuscirono anche ad approntare un teste biologico sul piccione, nel quale la prolactina stimola la particolare secrezione e desquamazione della mucosa del gozzo (latte del gozzo) che serve al nutrimento dei piccoli. La prolattina resulta inefficace negli animali prepuberi o castrati, ma la secrezione può essere ottenuta anche in questi casi, se precedentemente la mammella è stata preparata somministrando agli animali estrogeni e progesterone. Essa è il primo degli ormoni dell'ipofisi anteriore che sia stato isolato allo stato puro cristallizzabile, e le ricerche chimiche effettuate ne hanno dimostrato sicuramente la natura proteica. Fra le molteplici azioni fisiologiche esplicate dalla prolattina, meritano di essere ricordate le seguenti:

1) azione eccito-secretoria specifica sull'epitelio alveolare della mammella precedentemente preparata dagli ormoni ovarici; Lyons (26) ha dimostrato che nella coniglia castrata l'azione dei preparati prolattinici

è strettamente localizzata alla zona del parenchima trattato con l'ormone, fatto pure osservato da Meites e Turner (30);

2) azione aumentatrice sul metabolismo energetico e sul contenuto in glucosio del sangue;

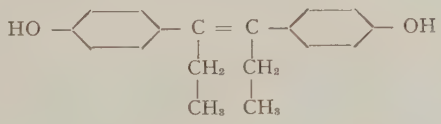
3) azione inibitrice sulle gonadi (testicolo ed ovaia), per una diminuzione nella produzione ipofisaria degli ormoni gonadotropi; questo fenomeno è stato accertato nel piccione, ratto e coniglio, ma probabilmente si verifica in misura limitata nella specie bovina e soltanto nelle vacche che forniscono alte produzioni.

Parecchie osservazioni sperimentali fanno ritenere che la secrezione lattifera diminuisca gradualmente durante la gravidanza per l'azione inibitrice esercitata dagli ormoni estrogeni, prodotti in quantità crescenti dalla placenta. L'antagonismo fra estrogeni e prolattina nei confronti della secrezione lattea, è in verità uno dei punti essenziali per la corretta interpretazione dei vari aspetti clinici e fisiologici riguardanti la lattazione delle femmine domestiche; così Turner ritiene che il grado di persistenza nella produzione delle bovine dipenda dalla maggiore o minore rapidità di eliminazione degli ormoni estrogeni placentari nell'urina, il che nella vacca si verifica dal quinto mese di gestazione. Ma l'equilibrio endocrino fra prolattina ed estrogeni non è il solo determinante fisiologico della lattazione, in quanto vi partecipano anche gli ormoni della corteccia surrenale e della tiroide, indispensabili al metabolismo idrico e salino ed all'utilizzazione del glucosio e delle proteine nelle trasformazioni biochimiche richieste dalla secrezione stessa. Secondo Spoor e Hartmann (42), la corteccia surrenale produrrebbe fra l'altro anche un ormone ad azione galattogena, che questi autori hanno denominato cortilattina, e che è capace di mantenere la lattazione nelle ratte private delle capsule surrenali. Concludendo, si può affermare che l'entrata in funzione della mammella e la lattazione sono la risultante di un giuoco estremamente complesso di azioni ormoniche, il cui meccanismo di « avviamento » (se così è lecito esprimersi) risiede nell'ipofisi ed è controllato, oltre che dagli ormoni sessuali e di altri organi endocrini, da fattori nervosi, fra cui la mungitura e l'atto del poppare hanno un importanza fondamentale, ormai chiarita da molte interessanti ricerche sulle quali non possiamo qui trattenerci.

2. — Estrogeni artificiali e stilbestrolo

Sono ben noti i fondamentali contributi apportati dalla biochimica moderna al progresso di importanti branche della biologia pura ed applicata, ed in particolare della endocrinologia, attraverso la identificazione della natura e struttura chimica di numerosi ormoni, realizzando sintesi di laboratorio ormai largamente sfruttate dall'industria farmaceutica. Nel

campo degli ormoni sessuali femminili i risultati sono stati ancora più sorprendenti poichè, oltre alla sintesi chimica degli ormoni naturali, è stato possibile preparare, a partire da un idrocarburo insaturo a doppio anello aromatico, lo stilbene, tutta una serie di sostanze dotate di proprietà biologiche molto simili a quelle degli ormoni estrogeni, e per questo denominate « estrogeni artificiali ». Questa importante scoperta, chimica e biologica al tempo stesso, si deve all'inglese E. C. Dodds ed ai suoi collaboratori (Robinson, Goldberg, Lawson) che nel 1938 effettuarono la sintesi del dietildiossistilbene, più comunemente denominato stilbestrolo, e ne dimostrarono le spiccate specifiche proprietà estrogene nelle topine e nelle ratte. La formula di questa sostanza è la seguente:



ma le ricerche recenti sugli spettri molecolari fanno ritenere che la sua struttura spaziale sia somigliante a quella dell'ormone naturale dell'ovaia, l'estradiolo. Oltre allo stilbestrolo, di cui generalmente viene usato l'estere dipropionico, si conoscono altri estrogeni artificiali derivati dal difenilesano (neoestrolo, octofolina) e dal trifeniletilene (sinestrolo), che differiscono prevalentemente nei riguardi della dose minima efficace e del grado di tossicità per i piccoli animali di laboratorio.

Poichè la letteratura ed i lavori sperimentali che riguardano le applicazioni degli estrogeni artificiali nel campo della endocrinologia e della medicina sono talmente vasti da non potere essere qui presi in considerazione, ci limiteremo alla sola enunciazione delle azioni fisiologiche provocate negli animali, ai quali vengono somministrate od inoculate dosi efficaci di stilbestrolo o suoi esteri:

1) lo stilbestrolo e gli altri estrogeni artificiali agiscono tanto se somministrati per via parenterale (iniezioni) che per via orale, a differenza degli ormoni naturali che agiscono soltanto se inoculati;

2) l'azione dello stilbestrolo si manifesta anche per via cutanea e mucosa, mediante applicazioni locali di soluzioni oleose o di pomate; è pure efficace iniettato a dosi piccolissime nella mucosa vaginale, come ha dimostrato Emmens (8), secondo il quale questa sostanza possiede una azione estrogena diretta;

3) il comportamento fisiologico dello stilbestrolo è in tutto paragonabile a quello degli estrogeni naturali: esso provoca iperemia generale del tractus genitale, alla quale succedono le caratteristiche modificazioni strutturali della mucosa uterina e vaginale, l'aumento del tono uterino e le manifestazioni esteriori del calore;

4) lo stilbestrolo promuove iperemia nella mammella vergine di topina, cavia, coniglia e capra, con successiva iperplasia e sviluppo del sistema tubulare. Infine, somministrato a dosi opportune e con trattamenti prolungati nel tempo, determina lo sviluppo istologico e la evoluzione strutturale della ghiandola mammaria nelle femmine vergini, giungendo fino a provocare la secrezione lattifera.

Poichè è questa ultima la proprietà fisiologica che prenderemo in considerazione, esaminiamo brevemente le ricerche sperimentali compiute sulle femmine domestiche, che hanno consentito di realizzare la « lattazione artificiale » in questi animali.

3. — Ricerche precedenti e risultati raggiunti

La prima ricerca in questo campo venne compiuta nel maggio 1940 all'Istituto lattiero sperimentale dell'Università di Reading (Inghilterra) da Folley, Watson e Bottomley (12). Questi studiosi, già a conoscenza delle proprietà mammotropiche dello stilbestrolo dimostrate dai collaboratori di Dodds negli animali da laboratorio, sperimentarono su una giovane capra nullipara. L'animale venne sottoposto 3 volte per settimana ad un trattamento locale della mammella, consistente nella applicazione sulla superficie cutanea di una soluzione oleosa 1 % di stilbestrolo. In capo ad un mese, dopo essersi manifestato un notevole sviluppo della ghiandola e dei capezzoli, si iniziò la secrezione di latte che raggiunse il massimo di 1 litro e mezzo, per poi decrescere gradualmente come in una lattazione normale. La pubblicazione delle esperienze destò vivo interesse, tanto che nello stesso anno Lewis e Turner (23) presentavano al congresso della Società americana per la produzione animale i risultati di analoghe esperienze su capre, pure con esito positivo. Ormai il problema della lattazione artificiale era diventato di attualità nei Paesi anglosassoni, ed infatti un buon numero di ricercatori, biologi e zootecnici, si misero all'opera giungendo a risultati non sempre eccellenti e talvolta contraddittori, ma comunque interessanti perchè hanno consentito di chiarire sempre meglio i diversi aspetti relativi ai modi di somministrazione, alle dosi, ed alle possibilità pratiche di realizzazione della lattazione artificiale nella specie bovina. Considereremo brevemente i lavori più importanti a nostra conoscenza, esaminandoli in ordine cronologico.

Nel 1941, i già ricordati Folley, Watson e Bottomley (13) intrapresero una serie di esperienze per determinare gli effetti dello stilbestrolo su vacche in lattazione. Praticando 5 iniezioni intramuscolari da 50 mg. di stilbestrolo in soluzione oleosa, a giorni alterni, ottennero una netta diminuzione della portata lattea accompagnata da un discreto aumento nella percentuale di sostanza secca; e lo stesso fenomeno si verificò con la somministrazione di 1 gr. di stilbestrolo nell'acqua di bevanda.

Dosi elevate (0,5 gr.) produssero aumento temporaneo del residuo magro e del contenuto in grasso, deprimendo però la produzione giornaliera; ed anche le applicazioni percutanee alla mammella con soluzione oleosa 1 % fornirono analoghi risultati. In vacche gravide trattate con alte dosi, si verificarono casi di aborto, e si potè constatare come in generale gli animali presentassero sintomi di ninfomania e rimanessero sterili. Queste ed altre esperienze, hanno in sostanza dimostrato che non si realizzano risultati vantaggiosi con i trattamenti di stilbestrolo sulle vacche in produzione.

Sempre nel 1941, Folley e Young (14), lavorando su capre vergini, dimostrarono i benefici del trattamento combinato fra stilbestrolo ed estratti di ipofisi anteriore, preparati di recente con mestruo alcalino. Con questa tecnica, la produzione lattifera artificiale di due caprette (che era di circa mezzo litro) crebbe fino ad un massimo di litri 0,87 e litri 1,70, ottenendo in questo ultimo caso risultati del tutto comparabili ad una lattazione fisiologica. Successivamente, Folley e Watson (11) iniziarono esperienze su 2 manze « Shorthorn », trattate con somministrazione percutanea di soluzione oleosa 1 % di stilbestrolo, realizzando però una secrezione molto modesta (80-170 cc. al giorno) di composizione più vicina al colostro che non al latte. In America, Walker e Stanley (49), alla Stazione agraria sperimentale della Louisiana, riuscivano a provocare la lattazione in una vitella castrata ed in una manza sterile di 3 anni, ricorrendo a frequenti iniezioni intramuscolari di piccole dosi di estrogeni artificiali. Nel 1942, comparvero i lavori di Cockburn (4) e quello fondamentale di Lewis e Turner (24, 25), della Stazione agraria del Missouri. Questi autori introdussero un nuovo sistema di somministrazione (già usato da endocrinologi sugli animali da laboratorio), e cioè l'impianto nel connettivo sottocutaneo di piccole compressine o tavolette di stilbestrolo, unito ad un eccipiente che assicura un assorbimento lento e graduale. Impianti di tavolette di stilbestrolo da 100 mg. promossero la lattazione artificiale in 2 capre vergini, e con una successiva unica iniezione di estratto preipofisario si ebbe un aumento notevole (fino al 150 %) della secrezione lattifera di questi animali, perdurando tale effetto per 30-40 giorni.

L'anno seguente, Barker (2) nel Canadà ottenne una cospicua lattazione artificiale in una manza sterile di 2 anni e mezzo, trattata con 3 iniezioni intramuscolari di stilbestrolo dipropionato da 25 mg. a giorni alterni, e quindi con iniezione sottocutanea di 1500 u. i. di siero di cavalla gravida, ricco di gonadotrofine placentari. La produzione massima raggiunta fu di circa 10 litri al giorno. Nel 1944, si ebbero le ricerche di Parkes e Glover (33) e di Petersen su manze sterili; quest'ultimo ottenne lattazione praticando 3 iniezioni settimanali a dosi di 20-40 mg. di stilbestrolo in soluzione oleosa. Nello stesso anno a Reading, Folley e Malpress (9) provocarono diverse lattazioni anche cospicue lavorando

su 9 vacche sterili e 19 manze affette da ipoplasia ovarica e infantilismo genitale. Questi autori seguirono la tecnica dell'impianto sottocutaneo di compressine di stilbestrolo, fino a dosaggi complessivi, in 60 giorni di trattamento, di gr. 2,5-5 (!). In queste ricerche fu osservato che le differenze individuali nella produzione di latte non erano in rapporto alle dosi impiegate, e che rimuovendo i residui delle compresse dopo 60-100 giorni dall'impianto, si aveva un temporaneo aumento della secrezione. Molte delle bovine trattate manifestarono ninfomania e notevole rilasciamento dei legamenti ischiatici, il che provocò fratture pelviche nel 20 % dei soggetti trattati e casi di prolasso vaginale o rettale. Tralasciando di illustrare le esperienze di Markin (27), Kudrjacev (21) e di Kirenskij (20) in Russia, concluderemo questa rassegna rilevando i punti più importanti dei lavori di Day e Hammond (6) a Cambridge e di Folley e Malpress (10) a Reading. I primi autori eseguirono una vasta serie di ricerche su 48 manze di razze lattifere non rimaste gravide, che vennero trattate con ripetuti impianti sottocutanei di tavolette di stilbestrolo e di esaestrolo. La durata del trattamento variò da 50 a 110 giorni, con dosaggi complessivi equivalenti da un minimo di 7 mg. fino ad un max. di 20 mg. giornalieri. I migliori risultati furono ottenuti con i trattamenti di 60 giorni, riscontrando un aumento temporaneo della produzione in seguito alla rimozione dei residui delle compressine. Anche questi ricercatori non trovarono una corrispondenza fra le dosi impiegate e l'entità della secrezione; nel complesso le lattazioni artificiali fornirono produzioni che in media risultarono di circa il 70 % rispetto a quelle di bovine primipare. Delle manze sottoposte all'esperimento, cinque presentarono produzioni massime oscillanti da 7,3 fino a 12,5 kg. giornalieri. Si manifestarono però diversi di ninfomania, ma nel complesso i due terzi degli animali rimasero gravidi richiedendo 2-3 salti per la fecondazione. Gli sperimentatori di Reading hanno potuto dimostrare che si realizza quasi sempre un aumento nella produzione di capre o di vacche in lattazione artificiale se, oltre al trattamento percutaneo o sottocutaneo di estrogeni artificiali, si alternano delle iniezioni di estratti di preipofisi in mestruo alcalino. La azione più intensa è fornita dagli estratti di ipofisi di cavalla, mentre quelli ottenuti dalla pecora e dalla scrofa sono risultati inattivi.

Alle esperienze illustrate ne sono seguìte parecchie altre che non hanno sostanzialmente modificato gli schemi di trattamento adottati a Reading ed a Cambridge. Spriggs (43) in manze sterili ha usato dosaggi di 50 compressine da 50 mg. impiantate sottocute nel periodo di 60 giorni; Dyrendhal (7) a Stoccolma ha adottato trattamenti percutanei ed iniezioni sottocutanee con soluzione oleosa 1 %, ottenendo la produzione massima giornaliera di kg. 3,5 in una vitella di 10 mesi; Peeters e Massart (35, 36) a Gand hanno sperimentato su agnelle e su manze, praticando nelle prime impianti sottocutanei alla mammella

con esito generalmente positivo, e nelle seconde usando dosi di 150-250 mgr. per q.le di peso. Infine, Meites e Turner (31), alla Stazione agraria sperimentale del Missouri, hanno dimostrato che nelle capre a fine lattazione, la somministrazione *per os* di estere metilico dello stilbestrolo e di una proteina iodata tireostimolante (protamone) promuove una rilevante ripresa della secrezione lattifera la quale, nei due soggetti studiati, crebbe fino al livello della massima produzione già conseguita nella lattazione normale. La maggioranza degli autori ha pertanto adottato o il metodo delle ripetute inoculazioni di soluzione oleosa di stilbestrolo, o quello dell'impianto sottocutaneo a più riprese di compressine di estrogeni, variando i dosaggi da un minimo di 0,5 gr. ad un massimo di 4 gr. per animale, dosi veramente massive (Hammond, 18) che non possono non turbare gravemente l'equilibrio endocrino sessuale dei soggetti trattati anche se, come consigliano gli autori inglesi, dopo 2 mesi dall'impianto si proceda all'estrazione dei residui delle compresse di stilbestrolo. In Francia, Letard e Szumowski (22), pur avendo usato dosaggi di 600 mgr. su manze, affermano che dall'esame delle ovaie e dalla assenza di calori verificata durante il periodo sperimentale, è da desumere che il trattamento con stilbestrolo abbia un effetto dannoso anche sulla futura carriera riproduttiva degli animali. Una segnalazione meritano infine le ricerche di Meites e collaboratori alla Stazione sperimentale agraria del Michigan (29) intese ad eliminare i danni delle dosi massive di stilbestrolo con un trattamento parallelo intensivo di progesterone. Le esperienze, per ora condotte su 2 manze, hanno fornito resultati molto promettenti senza però tener conto dell'aspetto economico dato il costo del progesterone e le forti dosi impiegate (4 gr. per impianto sottocutaneo di compresse). Tutto considerato, sembra che il problema della induzione artificiale della lattazione mediante stilbestrolo od altri estrogeni artificiali di basso costo, debba venire indirizzato verso la ricerca di un metodo più efficace di somministrazione, che riduca al minimo i danni di una alterazione dell'equilibrio ormonico sessuale negli animali trattati.

4. — Contributo sperimentale

Le esperienze di lattazione provocata artificialmente mediante somministrazioni ripetute di estrogeni artificiali e di estratti preipofisari o gonadotropine del siero di cavalla gravida, hanno aperto indubbiamente un nuovo ed interessante capitolo di biologia sperimentale che è però da considerare tuttora agli inizi, dato che non possediamo allo stato attuale dati nè univoci nè concordanti sulle dosi frazionate o massive degli impianti sottocutanei, nè tanto meno sullo schema di trattamento che assicuri la massima secrezione lattifera col minimo impiego di stilbestrolo

Fig. 1. – La manza « Stella », che ha servito all'esperimento, al principio della lattazione artificiale.

o di preparati ormonici. È un vasto campo di indagine aperto a notevoli sviluppi e perfezionamenti, che dovranno mirare soprattutto ad eliminare o ridurre al minimo i non lievi inconvenienti del trattamento, che in molti casi — come abbiamo già avuto modo di rilevare — provoca negli animali prolungati stadî di ninfomania, tendenza al prolasso vaginale, ipoplasia ovarica (effetto paradossale delle grandi dosi); condizioni tutte completamente negative per il concepimento e la successiva carriera produttiva degli animali.

Molto interessati dalla lettura di alcuni lavori già citati e riassunti nel paragrafo precedente, ci proponemmo di effettuare un'esperienza del genere che potesse servire da orientamento e nella quale si introducesse qualche modificazione agli schemi già noti, allo scopo di rendere più pratico il trattamento. Incoraggiati in tal senso dal prof. R. Giuliani, direttore dell'Istituto zootecnico dell'Università di Firenze, scegliemmo come animale da esperimento una manza meticcia (3/4 bruna alpina 1/4 frisona) allevata presso la stalla sperimentale dell'Istituto, che era giunta all'età di due anni senza avere mai manifestato i calori. Questa bovina aveva raggiunto un notevole sviluppo somatico e pesava all'inizio dell'esperimento (giugno 1949) ben 507 kg.; l'esame dell'apparato genitale effettuato mediante la palpazione per via rettale fece rilevare un grado

Fig. 2. – La mammella della manza dopo un mese di lattazione.

pronunciato di infantilismo, con utero molto piccolo, ovaie liscie ed ipoplasiche, cervice atrofica e priva di pliche, vulva e clitoride di tipo infantile.

a) Tecnica dell'esperienza

Convinti dell'opportunità di cominciare il trattamento con ormoni gonadotropi, allo scopo di esercitare una azione stimolante sul lobo anteriore della ipofisi, scegliemmo un buon preparato prolanico ottenuto dalla placenta di cavalla. Va quì ricordato, per inciso, che i preparati contenenti gonadotropine placentari manifestano un'azione fisiologica complessa tanto sull'ipofisi quanto sulle ovaie, che si manifesta talvolta in senso di stimolazione prevalentemente follicolare, e tal'altra con una azione marcatamente luteinizzante.

Il 27 maggio 1949 venne fatta alla manza una prima iniezione intramuscolare di preparato prolanico alla dose di 500 u.i., seguìta dopo una settimana da una seconda iniezione da 300 u.i. e da una terza iniezione, dopo altri 5 giorni, di 25 mgr. di stilbestrolo in soluzione oleosa 0,5 %.

Terminato questo primo ciclo, si potè constatare un progressivo ingrossamento della mammella ed un sensibile accrescimento dei capezzoli

anteriori. Dopo 4 settimane dalla prima inoculazione, la mammella ed i capezzoli della bovina erano ancora aumentati di volume, e fu possibile estrarre dai quartieri anteriori qualche getto di un liquido leggermente opalescente e di aspetto acquoso, evidentemente prodotto da secrezione del sistema tubulare. Si procedette allora ad un impianto sottocutaneo, sulla faccia sinistra del collo, di una compressina contenente 100 mgr. di stilbestrolo dipropionato in eccipiente di stearato di sodio. La piccola ferita venne suturata con un punto e protetta da impacco sterile. Iniziata una regolare mungitura, dopo 3 giorni si ottennero 200 gr. di secreto che aumentò progressivamente assumendo in pari tempo tutte le caratteristiche organolettiche del latte. Il 1° luglio, dopo 35 giorni dall'inizio dell'esperienza, la secrezione giornaliera di latte era giunta a kg. 3,550. Il latte risultò perfettamente normale alla prova di ebollizione, al sapore ed all'odore; il contenuto in grasso era alquanto elevato, il 4,5 %. Va notato che nei primi giorni di lattazione, dal quarto posteriore destro (che risultava meno sviluppato degli altri tre) si mungeva un liquido ancora di aspetto acquoso; vennero allora praticate due applicazioni locali di soluzione di stilbestrolo, frizionando bene la pelle del quarto ed il capezzolo per facilitare l'assorbimento; orbene, nel giro di pochi giorni la ghiandola assunse lo stesso sviluppo delle altre e cominciò a secernere vero latte. Il 15 luglio la produzione giornaliera era salita a kg. 4,900 di latte; un esame ginecologico praticato lo stesso giorno dimostrò che l'utero aveva acquistato uno sviluppo del tutto normale e si presentava assai tonico; all'ovaia sinistra, più che raddoppiata di volume, si riscontrò un corpo luteo (probabilmente un follicolo atresico luteinizzato), mentre l'ovaia destra risultò ancora piccola e liscia. Il decorso della lattazione nel primo mese è riportato nel seguente prospetto:

Periodo	Latte prodotto Kg. Totale	Media giorn.	% grasso
iniziale (25-30 giugno 1949)	3,670	0,612	—
1° luglio-10 luglio	29,500	2,950	4,5
11 luglio-20 luglio	51,150	5,115	4,1
21 luglio-31 luglio	64,900	5,900	4,1

L'alimentazione della bovina era basata su foraggio secco integrato da una miscela di mangimi concentrati (68 % crusca, 16 % semola glut. di mais, 16 % farina estraz. di soia); in media la razione giornaliera era formata da 12 kg. di fieno di prato naturale di buona qualità, e da 3 kg. della miscela di mangimi.

Ad un mese esatto di distanza dall'impianto sottocutaneo della compressina di stilbestrolo, si notò una leggera ma progressiva diminuzione

della secrezione lattea, che da kg. 6,250 del 24 luglio scese a kg. 5,600 il 27. Volendo allora asportare il residuo della compressa, come altri ricercatori avevano fatto, esaminammo accuratamente la zona, senza però poter rilevare alcuna traccia della compressa nè addensamenti connettivali di sorta. procedemmo allora (30 luglio 1949) ad una seconda inoculazione di 100 mgr. di stilbestrolo dipropionato, cambiando questa volta la tecnica di somministrazione. Ritenendo che la natura chimica dell'eccipiente usato potesse influire notevolmente sull'assorbimento dell'estrogeno, pensammo che fosse opportuno iniettare l'estrogeno in sospensione e soluzione con del grasso bovino, in maniera da creare nel connettivo sottocutaneo un vero e proprio deposito di stilbestrolo che, per il fatto di trovarsi disperso e disciolto in un componente normale dell'organismo stesso, sarebbe stato assorbito lentamente ed in una forma del tutto fisiologica. Preparammo infatti una sospensione di 100 mgr. di stilbestrolo in 8 gr. circa di sego bovino depurato con la filtrazione. Al momento dell'uso, la fiala contenente il grasso venne posta in acqua calda a 55°-50° fino a completa fusione, quindi il preparato venne aspirato in siringa ed iniettato nel sottocutaneo della giogaia mediante un ago robusto. La quantità di latte crebbe gradualmente nei giorni seguenti fino a kg. 6,800 al 6 agosto restando pressochè costante da questo momento, senza che si rendessero perciò più necessarie altre inoculazioni di estrogeni. Il 23 agosto, la manza manifestò un calore del tutto normale per intensità e durata, e venne saltata dal toro; due settimane più tardi l'esame rettale permise di constatare la presenza di un corpo luteo ben sviluppato alla ovaia sinistra, ma in realtà la bovina era rimasta vuota. Anche un secondo accoppiamento, effettuato il 1 dicembre 1949, rimase senza esito e l'animale non presentò in seguito alcun sintomo di calore.

b) Decorso della lattazione e produzione fornita

Un aspetto particolarmente interessante del caso che descriviamo (e che risulta di non facile interpretazione) è dato dal fatto che l'animale rispose al trattamento con grande sensibilità e rapidità, entrando in lattazione con un dosaggio assolutamente esiguo di stilbestrolo, in confronto a quello praticato dalla maggior parte degli autori: 2 inoculazioni da 100 mgr. ciascuna! La lattazione artificiale, iniziatasi il 25 giugno 1949, si protrasse fino al 13 luglio 1950, giorno precedente la macellazione della bovina, che fu effettuata sia per motivi economici che per consentire un esame anatomico ed istologico accurato che rendesse completa l'esperienza.

In complesso, la lattazione durò 384 giorni con una produzione totale di kg. 2196,5 di latte, come appare in dettaglio dal seguente prospetto:

Lattazione artificiale della manza «Stella»

Mese	Produzione di latte kg. Totale	media giorn.
1949: giugno (6 giorni)	3,6	0,60
luglio	137,5	4,43
agosto	207,6	6,70
settembre	212,5	7,08
ottobre	218,5	7,06
novembre	213,5	7,11
dicembre	175,3	5,65
1950: gennaio	181,3	5,85
febbraio	153,6	5,48
marzo	171,3	5,52
aprile	179,9	6,00
maggio	155,5	5,02
giugno	129,3	4,31
luglio (13 giorni)	57,1	4,39
	Totale kg. 2196,5	Media kg. 5,72

La produzione dei primi 300 giorni di mungitura (non calcolando il periodo iniziale dal 25 al 30 giugno) fu di kg. 1825,5, cioè corrispondente a quella di una mediocre primipara, ma senza tener conto del fatto che tale lattazione si è iniziata esattamente a 2 anni di età mentre, nel caso di una lattazione fisiologica, la mammella sarebbe entrata in funzione almeno 4-6 mesi più tardi. In tutto il decorso della lattazione la bovina non presentò mai alcun sintomo patologico a carico della sfera genitale. I due estri furono normali per intensità e durata, e ad entrambi seguì lo sviluppo di corpi lutei fisiologici, almeno a giudicare dalla grandezza e posizione; si accertò anzi che il primo calore fu accompagnato da ingrossamento e formazione follicolare dell'ovaia sinistra, mentre il secondo, manifestato a più di tre mesi di distanza, fornì un analogo reperto all'ovaia destra.

c) Reperto anatomico ed istologico

All'atto stesso della macellazione vennero prelevati gli organi il cui esame rivestiva maggiore interesse: l'utero con le ovaie, l'ipofisi, alcuni pezzetti di parenchima mammario. L'utero si presentava di sviluppo sensibilmente superiore a quello normale di una nullipara: lunghe e ben vascolarizzate le corna, ampio il corpo e sviluppata la cervice, il peso complessivo risultò di 450 gr. Le due ovaie erano di volume pressochè

eguale; mentre la sinistra presentava un corpo luteo ben sviluppato ed un corpo albicante di aspetto connettivale, quella destra aveva 3 formazioni cistiche di cui una del volume di una ciliegia e le altre due molto più piccole. Una sezione longitudinale praticata su una ghiandola mammaria mise in evidenza il completo sviluppo del capezzolo, della cisterna e dei dotti galattofori principali; il parenchima si presentava soffice, di consistenza elastica ed aveva un colore salmone chiaro. L'ipofisi fresca, liberata dal rivestimento della dura madre, pesava gr. 2,85; valore assai elevato rispetto ai pesi medi riportati da alcuni autori per bovine di 3 anni: infatti secondo Reece e Turner* tale peso è di gr. 1,49 mentre interpolando un diagramma di Brody** risulterebbe che l'ipofisi di vacche del peso vivo di 500 kg. pesa in media gr. 2,6.

Le ovaie, l'ipofisi e due pezzetti di mammella vennero passati in liquido fissatore formato da formalina al 10 % in soluzione fisiologica. I preparati istologici vennero eseguiti presso l'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Firenze dal comm. Ignesti. Per la mammella e le ovaie si adottò la colorazione all'ematossilina-eosina mentre l'ipofisi venne preparata secondo il metodo Rasmussen-Ignesti, mediante il quale le cellule basofile restano colorate dal blu di metile, quelle acidofile dalla fucsina acida e tutti i nuclei, compresi quelli delle cellule cromofobe, vengono colorati dall'ematossilina di Ehrlich.

Riportiamo ora, in forma necessariamente schematica, i reperti istologici rilevati dall'esame di varie sezioni di ogni organo.

Mammella. — L'esame istologico di alcune sezioni del parenchima mammario ha fornito un quadro assolutamente tipico e normale di mammella bovina in lattazione: alveoli ampi, con epitelio cubico ricco di granulazioni citoplasmatiche e globuli di grasso. Ricca la rete capillare e numerose le cellule mioepiteliali nella zona basale dell'epitelio.

Ovaia destra. — Questa ovaia, come abbiamo già detto, presentava una cisti piuttosto voluminosa, due assai piccole e varie formazioni follicolari ovoidali di 1-2 mm. di diametro. All'esame microscopico si notò che la parete della cisti maggiore presentava sulla faccia interna una sottile membrana di elementi epiteliali appiattiti con nuclei in picnosi, evidentemente il residuo della granulosa. Delle formazioni microcistiche, alcune avevano tipico aspetto follicolare con granulosa spessa e cavità con traccia di sostanze proteiche coagulate dal liquido fissatore; altre presentavano una teca interna assai sviluppata e zaffi di piccole cellule

* The rôle of hormones in reproduction. In: Artificial insemination of farm animals. Rutgers Univ. Press, 1950, p. 33.

** Bioenergetics and growth. New York, Reinhold Publ. Corp., 1945, p. 595.

luteiniche frammiste ad elementi connettivi. Evidentemente, si trattava di follicoli atresici in fase di trasformazione luteinica. Vennero notati, nella zona corticale dell'ovaia, anche alcuni ammassi di tessuto luteinico isolato, con cellule molto ricche di grasso.

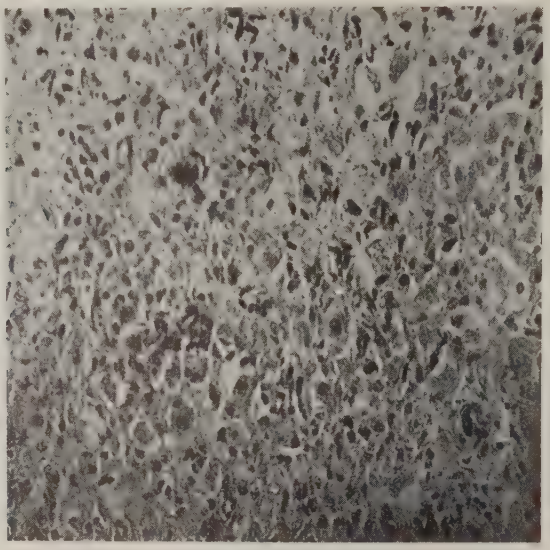


Fig. 3. – Corpo luteo dell'ovaia sin. della bovina. Ingr. 220 ×. Si noti la relativa scarsità di cellule luteiniche e l'abbondanza di cellule di tipo tecale.

Ovaia sinistra. — In quest'ovaia, il corpo luteo occupava in sezione la maggior parte dell'organo. Nella zona corticale, subito sotto l'albuginea, si notavano alcuni follicoli, uno in via di maturazione con il cumulo ooforo, e vari altri atresici con cellule tecali grandi e poligonali, che stavano a dimostrare la trasformazione luteinica di tali follicoli. Il corpo luteo presentava, in posizione molto eccentrica e vicino alla superficie dell'ovaia, una ciste di mm. 2,5 di diametro, delimitata da una sottile membrana di epitelio piatto, e circondata da una sorta di teca prevalentemente connettivale alla quale seguiva il tessuto proprio dell'organo. Tale tessuto era caratterizzato dal fatto che le cellule luteiniche si trovavano disperse irregolarmente, senza formare travate, e frammiste entro un tessuto connettivale di tipo giovanile, pur non mancando zone luteiniche a struttura tipica. In sostanza, questo tessuto era caratterizzato da relativa scarsità di elementi luteinici e non presentava d'altronde caratteri di fibrosi o di involuzione, in quanto ricco di cellule e di vasi sanguigni.

Ipofisi. — Limiteremo l'esame alla preipofisi, in quanto la *pars neuralis* e la *p. intermedia* non fornirono nessun rilievo degno di essere segnalato. Il lobo anteriore, invece, presentava in tutte le sezioni (ne vennero studiate 6 di una serie preparata nella maggior parte dello spes-

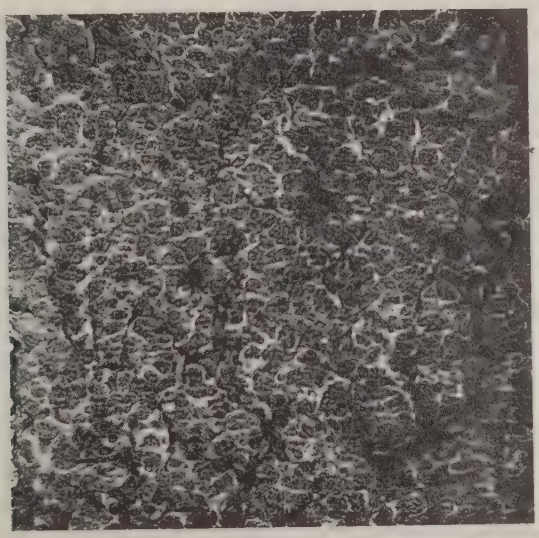


Fig. 4. – Lobo anteriore della ipofisi della bovina. Ingr. 220×. Zona principale a elementi acidofili. Stroma connettivo in chiaro; molto scarse le cellule cromofobe. Si notino alcuni gruppi cellulari intensamente colorati.

sore dell'organo) una netta suddivisione fra una zona cromofoba centrale ricca di cellule basofile e il rimanente tessuto contenente numerosi elementi acidofili. La zona predetta, riconoscibile come un esile stria partente dalla fessura ipofisaria verso il polo anteriore, aumentava gradualmente di estensione passando dalle sezioni inferiori (ventrali) alle superiori (dorsali). In essa le cellule principali o cromofobe (che attualmente vengono considerate come lo stadio iniziale o di riposo funzionale della cellula ipofisaria) non costituivano, in generale, più dell'80 % degli elementi istologici; va però rilevato che un buon numero di cellule col citoplasma colorato col blu di metile, presentavano un grado modesto di basofilia. Nella zona del polo anteriore della ghiandola si notavano numerosi follicoli di forma allungata, fino a formare delle specie di fessure, contenenti spesso della sostanza colloide. Sempre nella zona cromofoba, verso i margini, si notavano anche gruppi di grosse cellule acidofile. Le due zone principali, separate fra loro dalla predetta zona cromofoba-

basofila, risultavano costituite in gran parte (60-70 %) da cellule acidofile disposte a cordoni o ad isolotti; solo nella zona periferica del lobo anteriore le cellule cromofobe avevano la assoluta preponderanza. In conclusione, la caratteristica più interessante della preipofisi della bovina

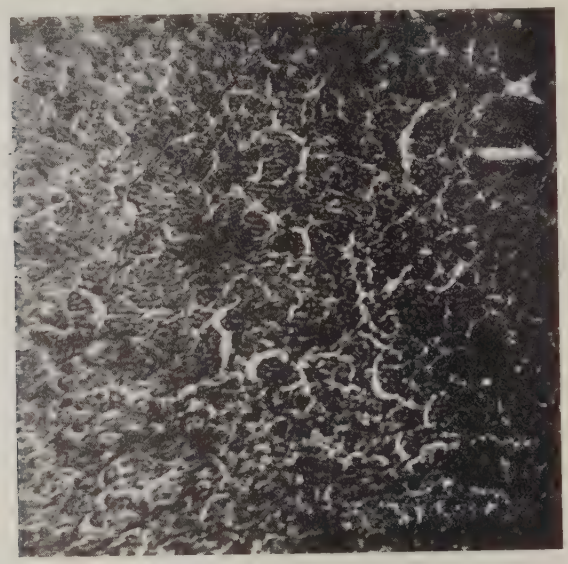


Fig. 5. — Lobo anteriore dell'ipofisi bovina. Zona di passaggio: a sinistra, tessuto di elementi cromofobi e basofili; a destra, cellule acidofile intensamente colorate. Stroma connettivo chiaro. Ingr. 220 ×.

studiata, era data da una spiccata cromofilia generale e dalla separazione di una zona centrale cromofoba ricca di cellule basofile, da due zone laterali nettamente acidofile. Questo reperto, che è illustrato da 3 microfotografie, ci sembra interessante perchè non ne abbiamo trovato segnalazione in lavori recenti ed accurati sulla istologia della ipofisi bovina (Gilmore e collaboratori, De Lange, Dawson).

5. — Discussione e considerazioni conclusive

È del tutto ovvio che non si possa trarre, da un singolo esperimento, alcuna conclusione di validità generale; pure riteniamo opportuno discutere il presente caso di lattazione provocata artificialmente, anche perchè chi si accingerà a ripetere esperienze di questo genere possa avere un

quadro sufficiente dei complessi, ed in buona parte oscuri fenomeni, che derivano dai trattamenti con estrogeni sintetici.

È anzitutto evidente che l'esperienza illustrata nella presente nota è pienamente riuscita, malgrado l'impiego di dosi meno che modeste di gonadotropine e di stilbestrolo; e ciò pensiamo possa essere ascritto in primo luogo ad una particolare sensibilità ormonica dell'ipofisi della bovina, nella quale si è realizzato rapidamente l'equilibrio endocrino della lattazione, ed in secondo luogo alla particolare forma di somministrazione dell'estrogeno.

Sull'interpretazione del meccanismo che è coinvolto nella lattazione artificiale, si può per ora proporre solo uno schema che sia in accordo con i fatti noti e sperimentalmente dimostrati. Secondo l'opinione di Lewis e Turner (24), di Smith e collaboratori (41), e di altri endocrinologi, lo stilbestrolo agirebbe sul lobo anteriore dell'ipofisi di femmine non in lattazione, stimolando la produzione di ormone galattogeno; inoltre è del tutto evidente che lo stilbestrolo possiede anche una azione diretta sul parenchima mammario, promuovendo lo sviluppo tubulo-alveolare e forse anche la secrezione lattea, come pensano Turner e Meites (47). Questa concezione è stata avvalorata, nel nostro caso, dall'esito positivo delle applicazioni percutanee sulla mammella posteriore destra della bovina, che hanno trasformato la secrezione iniziale di tipo tubulare in secrezione lattea. È d'altronde molto probabile che il meccanismo diretto degli estrogeni artificiali sia potenziato dall'ipofisi, ciò che sarebbe dimostrato dalla favorevole azione che esplicano i preparati ipofisari e placentari. Nei riguardi di quest'ultimi, usati nel nostro esperimento, l'azione follicolo-stimolante iniziale porterebbe alla produzione di piccole quantità di estrogeni che, secondo C. D. Turner (45), rappresentano lo stimolo efficace per la produzione di luteotropina e di prolattina. In conclusione, la secrezione lattifera provocata dallo stilbestrolo e da altri estrogeni artificiali deriverebbe da un duplice meccanismo, ad azione diretta sulla mammella — confermata dalle ricerche di Peeters e Massart (36) sulle agnelle — ed indiretta causata da uno stimolo sul lobo anteriore dell'ipofisi. Quali siano d'altra parte le modificazioni istologiche e funzionali di quest'importantissimo organo endocrino durante la lattazione artificiale è difficile dire per ora; anche perchè gli animali che vengono ordinariamente destinati a queste esperienze sono quasi sempre dei soggetti sterili per forme clinicamente le più diverse, molte delle quali dipendono da disfunzioni ipofisarie che si traducono in alterazioni del quadro istologico normale. Questo è stato studiato nelle vacche da Gilmore e collaboratori (15) che riportano la seguente ripartizione media: 48,7 % cellule cromofobe; 44,3 % cellule acidofile; 7 % basofile.

Nel nostro caso, pur non avendo effettuato una conta cellulare vera e propria, possiamo affermare che circa due terzi degli elementi istologici ipofisari della bovina studiata erano marcatamente acidofili, mentre le cellule basofile si trovavano prevalentemente distribuite nella descritta zona centrale. La preponderanza degli elementi acidofili, è dunque una caratteristica che potrebbe essere in relazione con le particolari condizioni endocrine della lattazione artificiale. Baker ed Everett (1) hanno dimostrato, nelle rattine impuberi, che la somministrazione prolungata di stilbestrolo provoca un aumento di peso della ipofisi ed un netto incremento della percentuale di cellule acidofile. D'altra parte, molti endocrinologi, (Severinghaus, 40) ritengono ormai che le cellule ipofisarie siano soggette ad un vero e proprio ciclo funzionale nel quale lo stadio cromofobo rappresenta la fase di riposo e quello cromofilo l'attività; questa sarebbe biochimicamente specializzata nella produzione di ormone follicolo-stimolante da parte delle cellule basofile, e dell'ormone luteo-stimolante nonchè della prolattina, da parte delle cellule acidofile. Queste si possono distinguere, ricorrendo ad un particolare metodo tintoriale, in cellule carminofile (che prendono l'azocarminio) ed in acidofile ordinarie (che si colorano con l'orange G); e vi sono ricercatori, come Dawson (5), che ritengono l'ormone galattogeno elaborato dalle cellule carminofile e non dalle acidofile ordinarie, che sarebbero invece la sede della sintesi dell'ormone luteinizzante. Lasciando da parte tali difficili e non risolti aspetti dell'endocrinologia ipofisaria, possiamo concludere (limitatamente al caso descritto) affermando che la somministrazione di gonadotropine e di stilbestrolo ha influito sulla funzione ipofisaria del soggetto, nel senso di una stimolazione dell'attività luteinizzante e prolattinica, come è dimostrato dai risultati dell'esperimento e dal reperto istologico, ovarico e ipofisario. È impossibile dire se questo comportamento abbia carattere generale o debba essere invece attribuito alla particolare costituzione endocrina del soggetto; però sembra dimostrato dalle recentissime esperienze di Meites, Reinecke e Huffman (29) che l'associazione di forti dosi di progesterone (ormone del corpo luteo) al trattamento classico di impianto sottocutaneo di compressine di stilbestrolo, dia notevoli vantaggi eliminando ogni inconveniente ed aumentando la secrezione lattifera. A noi sembra che, al punto attuale delle nostre conoscenze, i problemi più importanti siano quelli del dosaggio e della tecnica di somministrazione dello stilbestrolo e degli altri estrogeni sintetici, allo scopo di provocare delle lattazioni artificiali in manze sterili o comunque deficienti nella funzione riproduttiva, senza danneggiare e compromettere ancora di più la carriera futura degli animali. La condizione ideale sarebbe, senza alcun dubbio, quella di inoculare nelle bovine un numero

di dosi minime efficaci, nella forma più adatta ad essere assorbita molto gradualmente e con un meccanismo del tutto fisiologico. Nel nostro caso, le due dosi da 100 mgr. in eccipiente grasso (stearato di sodio e sego bovino) sembrerebbero avere agito nel senso predetto; ma soltanto una sperimentazione ampia e condotta con criterio comparativo fra diverse tecniche di somministrazione e diversi dosaggi, potrà dare una risposta esauriente a questo problema.

In conclusione, la lattazione provocata artificialmente mediante lo stilbestrolo, associato o meno ad altri prodotti ormonici (gonadotropine, progesterone), è ormai un fatto sperimentale del tutto acquisito e suscettibile di ampi sviluppi, sia di carattere scientifico che economico. Gli animali nei quali questi trattamenti risultano praticamente indicati sono le manze di razze lattifere che non presentano i calori, o che coperte varie volte rimangono vuote. In questi casi, ottenere una lattazione di modesta entità significa realizzare una prima produzione economica in attesa che l'animale recuperi, con adatte cure, la funzione riproduttiva. Ma forse si potrebbero aprire anche altre possibilità, non meno interessanti dal lato zootecnico. Molte vacche, primipare e adulte, di razze da carne e da lavoro, risultano spesso così scadenti lattifere da non permettere un sufficiente accrescimento dei loro vitelli, con grave danno per l'allevatore. Trattamenti, percutanei o sottocutanei, di dosi opportune di stilbestrolo potrebbero anticipare o provocare un buon sviluppo della mammella delle manze in modo da aumentare la produzione lattifera al momento del parto. È del tutto prematuro azzardare previsioni ottimistiche, come sarebbe ingiusto negare a priori ogni valore pratico ed economico alla lattazione artificiale. Una cosa è comunque ben certa: che soltanto una seria sperimentazione zootecnica, assistita dall'interessamento degli allevatori e da concreti aiuti finanziari pubblici o privati, potrà fornire prove decisive in favore o meno di questa recente ed interessante applicazione della scienza biologica.

RIASSUNTO

Dopo avere esaminato brevemente i fattori ormonici che regolano lo sviluppo mammario e la secrezione lattifera, nonchè l'azione fisiologica esplicata in questo campo dagli estrogeni artificiali, si passano in rassegna le esperienze di lattazione indotta mediante impianti sottocutanei di stilbestrolo ed altri trattamenti ormonici, compiute da vari autori dal 1940

al 1950. Viene quindi illustrata l'esperienza condotta dall'A. su una bovina sterile di 2 anni, che venne trattata con gonadotropine placentari e quindi con 2 impianti sottocutanei di 100 mgr. di stilbestrolo propionato in eccipiente grasso. La manza entrò in lattazione poco dopo il primo impianto, e produsse kg. 2.196 di latte in 384 giorni; in questo periodo non manifestò alcun sintomo morboso, anzi venne in calore 2 volte e fu accoppiata. Essendo rimasta vuota, la bovina venne macellata quando la sua produzione giornaliera di latte era discesa a 4 kg. Si potè così compiere un'esauriente indagine anatomica ed istologica sulle ovaie e sulla ipofisi, di cui si riferisce nel testo. Rilevata l'importanza del problema del dosaggio e della tecnica di somministrazione degli estrogeni sintetici, viene discusso il probabile meccanismo endocrino coinvolto nella lattazione artificiale, indicando le possibilità tecniche di applicazione e la necessità di ulteriori indagini.

SUMMARY

AN EXPERIMENTAL CONTRIBUTION TO THE ARTIFICIAL LACTATION OF HEIFERS OBTAINED BY HORMONAL TREATMENTS

by Elvio Borgioli

After a brief review of hormonal control of the udder development and milk secretion, and an account of the experiments on induced lactation by estrogen implants performed since 1940, the author describes the technique and results of an experiment, in which lactation was induced in a 2 years old barren heifer. The animal was treated first with mare's chorionic gonadotrophins (500 and in one week 300 i.u.), 25 mq. of stilbestrol propionate in oil, and one subcutaneous implant of 100 mg. stilbestrol tablet in fatty medium. Shortly after implant, lactation began and rose to 6 kg. daily within one month. Then, a second 100 mg. stilbestrol dose, in melted bovine fat as solvent, was injected subcutaneously. Milk secretion further increased up to 7.1 kg. daily for 3 months, declining slightly in the following months. The total milk yield was kg. 2.196 in 384 days. No morbid symptoms were recorded; the heifer even showed 2 normal heats and was served by the bull, but remained barren. The animal was slaughtered, and anatomic histologic record of

ovaries and pituitary gland was made. The histological picture showed conspicuous luteinisation of the former, and great abundance of acidophilic cells in the *pars distalis* of hypophysis. The endocrine mechanism of estrogen treatments is discussed, and some possible practical applications of artificial lactation are pointed out.

INDICE BIBLIOGRAFICO

(1) Baker, B. L., and Everett, N. B. *Endocrinology,* 1944, 34, 254.

(2) Barker, C. A. *Canad. Jour. Comp. Med.,* 1943, 7, 302.

(3) Borgioli, E. *Riv. Zoot.,* 1948, 21, 159, 235, 266.

(4) Cockburn, R. S. *Veter. Rec.,* 1942, 54, 467.

(5) Dawson, A. B. *Amer. Jour. Anat.,* 1946, 78, 347.

(6) Day, F. T., and Hammond, J. *Jour. Agric. Sci.,* 1945, 35, 150.

(7) Dyrendhal, S. *Skand. Veter. Tidskr.,* 1946, 36, 478.

(8) Emmens, C. W. *Jour. Endocrin.,* 1941, 2, 368, 444.

(9) Folley, S. J., and Malpress, F. H. *Jour. Endocrin.,* 1944, 4, 1, 23, 43.

(10) Folley, S. J., and Malpress, F. H. *Jour. Endocrin.,* 1945, 4, 181.

(11) Folley, S. J., and Watson, H. M. *Jour. Physiol.,* 1941, 100, 7.

(12) Folley, S. J., Watson, H. M., and Bottomley, A. C. *Jour. Physiol.,* 1940, 99, 15.

(13) Folley, S. J., Watson, H. M., and Bottomley, A. C. *Jour. Dair. Sci.,* 1941, 12, 1.

(14) Folley, S. J., and Young, F. G. *Nature,* 1941, 148, 563.

(15) Gilmore, L. O, Petersen, W. E., and Rasmussen, A. T. *Minnesota Agr. Exp. Stat. Bull. No. 145,* 1941.

(16) Gomez, E. T., and Turner, C. W. *Missouri Agr. Exp. Stat. Bull. No. 259,* 1937.

(17) Gomez, E. T., and Turner, C. W. *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1938, 36, 607.

(18) Hammond, J. Artificial lactation and its uses. Festskr. Prof. P. Tuff. Oslo, 1948, p. 134.

(19) Hollard, M. G., and Campbell, J. L. *Anim. Breed. Abs.,* 1948, 16, 24.

(20) Kirenskj, G. *Veterinarija,* 1948, 4, 42.

(21) Kudrjacev, A. A. *Veterinarija,* 1944, 21, 35.

(22) Letard, E., et Szumowski, P. *C. R. Acad. Agric. France,* 1949, 35, 351.

(23) Lewis, A. A., and Turner, C. W. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.,* 1940, 33, 63.

(24) Lewis, A. A., and Turner, C. W. *Endocrinology,* 1942, 31, 520.

(25) Lewis, A. A., and Turner, C. W. *Jour. Dair. Sci.,* 1942, 25, 895.

(26) Lyons, W. R. *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1942, 51, 308.

(27) Markin, G. A. *Veterinarija,* 1946, 10, 40.

(28) Marshall, S. P., and Becker, R. B. *Jour. Dair. Sci.,* 1946, 29, 524.

(29) Meites, G., Reinecke, E. P., and Huffman, C. J. *Anim. Breed. Abs.,* 1951, 19, 55.

(30) Meites, G., and Turner, C. W. *Amer. Jour. Physiol.,* 1947, 150, 394.

(31) Meites, G., and Turner, C. W. *Jour. Anim. Sci.,* 1947, 6, 499.

(32) Nottbohm, H. *Molker. Zeit.,* 1948, 24.

(33) Parkes, A. S., and Glover, R. E. *Jour. Endocrin.,* 1944, 4, 90.

(34) Peeters, G. *Anim. Breed. Abs.,* 1947, 15, 7.

(35) Peeters, G., and Massart, L. *Jour. Endocrin.,* 1947, 5, 166.

(36) Peeters, G., and Massart, L. *Arch. Intern. Pharmacodyn.,* 1949, 78, 548.

(37) Reece, R. P. *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1943, 52, 145.

(38) Riddle, O., and Bates, R. W. *Amer. Jour. Physiol.,* 1931, 97, 617.

(39) Selye, H. *Anat. Rec.,* 1940, 78, 253.

(40) Severinghaus, A. E. Anterior hypophysal cytology. In: Sex and internal secretion. 2nd edit. Baltimore, William Wilkins Co., 1939.

(41) Smith, O., and Watkins, G. *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1944, 57, 198.

(42) Spoor, H. J., and Hartman, F. A. *Amer. Jour. Physiol.,* 1941, 12, 18

(43) Spriggs, D. N. *Veter. Rec.,* 1945, 57, 519.

(44) Trautmann, A., Fauvet, E. *Deut. Tierärtzl. Wochschr.,* 1947, 54, 59.

(45) Turner, C. D. General Endocrinology. Philadelphia, Saunders Co., 1949, chapt. 11-12.

(46) Turner, C. W., and Frank, H. A. *Proc. Amer. Soc. Anim. Prod.,* 1930, 134.

(47) Turner, C. W., and Meites, J. *Jour. Dair. Sci.,* 1943, 26, 747.

(48) Usuelli, F. *Riv. Zoot.,* 1948, 21, 195.

(49) Walker, S. M., and Stanley, A. J. *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1941, 48, 50.

Ricevuto il 1° agosto 1951.

STAZIONE SPERIMENTALE DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA
(Direttore: Italo Cosmo)
CONEGLIANO

Tullio De Rosa

INDAGINI SULLA COMPOSIZIONE DELL'ACETO DI VINO

Allo scopo di contribuire alla conoscenza della composizione dell'aceto di vino, è stata analizzata una serie di 29 campioni prelevati nelle provincie di Treviso, Gorizia, Rovigo, Vicenza, Venezia, Padova e Verona, serie comprendente 10 aceti di produzione casalinga (aggiunta successiva di vino scarto nella botte contenente aceto in presenza della « madre »), 3 aceti di vinaccia (ottenuti lisciviando vinaccia acetita) e 16 aceti industriali di cui 4 ottenuti usando, come massa di arieggiamento, tutoli di granoturco e i restanti 12 usando, sempre allo stesso scopo, trucioli di faggio.

Per ogni campione sono state eseguite 11 determinazioni come risulta dalla tabella sotto riportata.

Per le tre acidità, la glicerina, il bitartrato, l'estratto, le ceneri e l'alcalinità delle ceneri sono stati adottati i metodi d'analisi ufficiali; per il manganese, un metodo che comporta l'ossidazione del manganese, contenuto nelle ceneri, con ossido di argento bivalente e titolazione dell'acido permanganico formatosi, con acqua ossigenata e permanganato di potassio. Per il pH, è stato adottato il metodo colorimetrico.

Sarebbe stata interessante anche la determinazione del grado alcoolico, ma non è stato possibile effettuarla per mancanza di quantitativo sufficiente di liquido, ragione che ha impedito, in otto campioni, anche la determinazione del manganese.

	Campione		Densità 15°	Ac. totale gr. acido acetico × 100 cc.	Ac. volat. gr. ac. acetico × 100 cc.	Acid. fissa gr. ac. tartatarico × 100 cc.	Glicerina gr. × litro	Bitartrato di K gr. × litro	Estratto g. × litro	Ceneri gr. × litro	Alcalinità ceneri cc. Na OH N/1 × litro	Manganese mgr. × litro	pH
Aceti casalinghi (con «madre»)	1 —	Basalghelle TV	(bianco)	1.008	3,15	2,49	0,78	5,65	0,79	26,10	3,32	3,54	0,77	3,2
	2 —	Conegliano TV	(rosato)	1.000	2,26	1,55	0,84	6,47	2,95	16,67	1,98	2,55	11,25	3,4
	3 —	Maser TV	»	1.000	2,64	1,43	1,43	7,34	1,95	20,16	2,68	2,08	2,37	3,4
	4 —	Nervesa TV	(bianco)	1.022	7,18	5,45	2,04	3,40	4,45	27,31	3,03	4,36	—	3,2
	5 —	Pettorazza RO	(rosso)	1.006	3,02	2,23	0,94	7,43	1,10	21,25	3,35	3,60	2,64	3,4
	6 —	Cormons GO	»	0.994	0,63	0,19	0,52	3,82	1,79	20,02	2,21	2,20	—	3,6
	7 —	Motta TV	»	1.026	0,77	8,85	1,92	6,97	2,49	23,36	4,24	4,44	—	3 —
	8 —	S. Michele di F. TV	»	1.004	3,46	3,09	0,44	8,63	1,61	20,08	3,72	3,72	2,97	3,2
	9 (13)	Ponte di Mossano VI	»	1.005	3,84	3,49	0,42	8,33	1,25	17,70	2,70	2,10	2,53	3,5
	10 (21)	Fregona TV	»	0.999	2,10	1,80	0,36	13,92	1,33	24,74	1,60	2,70	—	3,4
Con tutoli di granoturco — Aceti di vinacc.	11 (10)	Soligo TV	(bianco)	1.010	1,57	0,78	0,94	3,59	2,20	18,61	3,39	3,68	—	3,4
	12 (11)	S. Polo TV	(rosato)	1.008	3,60	3,30	0,36	6,55	0,60	10,45	3,04	4,20	—	3,4
	13 (12)	Mareno TV	»	1,017	6,06	5,55	0,60	7,82	1,46	26,08	2,21	3,40	—	3,2
	14 —	Treviso (Biasin)	(bianco)	1.020	8,10	7,61	0,58	5,02	1,99	17,29	2,83	3,88	2,64	3,5
	15 —	Treviso (Biasin)	(rosso)	1.020	8,16	7,77	0,46	4,84	1,73	18,73	2,68	2,54	2,09	3,5
	16 (17)	Treviso (Carrera)	(bianco)	1.013	5,28	5,17	0,13	4,79	0,67	26,08	2,08	3,22	0,77	3,4
	17 (16)	Treviso (Carrera)	(rosso)	1.016	5,22	4,86	0,43	3,68	1,37	14,61	2,22	3,94	2,64	3,6
Con trucioli di faggio	18 -	Treviso (Crosato)	(bianco)	1.018	7,32	6,73	0,70	5,90	1,92	24,94	3,14	4,34	1,76	3,5
	19 —	Treviso (Sanson)	»	1.022	8,76	8,36	0,48	6,70	1,65	16,29	3,11	4,20	0,77	3,5
	20 —	Treviso (Sanson)	(rosso)	1.021	7,92	7,11	0,96	8,56	5,30	23,53	3,21	4,24	1,21	3,6
	21 —	Mira (Lenzi)	»	1.015	5,54	4,50	1,23	4,68	2,42	15,70	2,83	2,54	1,08	3 —
	22 (23)	Padova (Cesarini)	(bianco)	1.016	6,30	5,89	0,49	7,00	0,64	18,41	4,34	4,96	0,55	3,6
	23 (22)	Padova (Cesarini)	(rosso)	1.018	6,00	5,56	0,52	7,36	0,64	20,50	4,46	4,90	1,51	3,6
	24 (25)	Limena PD (Golin)	(bianco)	1.017	5,40	4,96	0,52	6,60	3,16	22,01	2,99	4,06	1,54	3,5
	25 (24)	Limena PD (Golin)	(rosso)	1.020	7,62	7,11	0,60	6,27	4,40	25,11	3,31	4,48	—	3,3
	26 (27)	Borgoricco PD (Malgarini)	(bianco)	1.020	5,04	4,34	0,83	5,26	1,69	25,35	1,91	3,90	2,20	3,4
	27 (26)	Borgoricco PD (Malgarini)	(rosato)	1.022	5,46	4,89	0,72	7,35	0,94	31,92	2,05	3,14	2,55	3,4
	28 —	Valeggio VR (Giacomelli)	(rosso)	1.014	6,78	6,61	0,21	2,77	1,28	31,56	1,54	4,10	1,41	3,4
	29 —	Isola d. Scala VR	(bianco)	1.012	5,76	5,55	0,25	1,75	0,37	5,38	0,70	2,00	0,22	3,5

Da una prima elaborazione dei singoli dati analitici su riportati, emergono le seguenti frequenze, per scale di ampiezza:

Densità a 15°

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 1.000	2	2*		
Fra 1.000 e 1.010	8	6	2	
Fra 1.011 e 1.020	14		1	13
Superiore a 1.020	5	2		3

* Ciò probabilmente è dovuto alla percentuale notevole di alcool presente (e non analizzato per insufficienza di quantitativo di aceto disponibile), dato che, specialmente in uno dei due campioni, ci troviamo di fronte a vini fortemente spunti più che a veri e propri aceti.

Acidità totale %

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 1,00	1	1*		
Fra 1,00 e 2,00	1		1	
Fra 2,01 e 3,00	3	3		
Fra 3,01 e 4,00	5	4	1	
Fra 4,01 e 5,00				
Fra 5,01 e 6,00	8			8
Fra 6,01 e 7,00	3		1	2
Fra 7,01 e 8,00	4	1		3
Superiore a 8,00	4	1		3

* Stesso campione di cui alla nota precedente.

Acidità volatile %

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 1,00	2	1*	1	
Fra 1,00 e 2,00	3	3		
Fra 2,01 e 3,00	2	2		
Fra 3,01 e 4,00	3	2	1	
Fra 4,01 e 5,00	5			5
Fra 5,01 e 6,00	6	1	1	4
Fra 6,01 e 7,00	2			2
Fra 7,01 e 8,00	4			4
Superiore a 8,00	2	1		1

* Stesso campione di cui alle due note precedenti.

Acidità fissa %

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 0,20	1			1
Fra 0,20 e 0,30	2			2
Fra 0,31 e 0,40	2	1	1	
Fra 0,41 e 0,50	6	2		4
Fra 0,51 e 0,60	6	1	1	4
Fra 0,61 e 0,70	1			1
Fra 0,71 e 0,80	2	1		1
Fra 0,81 e 0,90	2	1		1
Fra 0,91 e 1,00	3	1	1	1
Superiore a 1,00	4	3		1

Glicerina °/₀₀

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 2,00	1			1 *
Fra 2,01 e 3,00	1			1
Fra 3,01 e 4,00	4	2	1	1
Fra 4,01 e 5,00	3			3
Fra 5,01 e 6,00	4	1		3
Fra 6,01 e 7,00	6	2	1	3
Fra 7,01 e 8,00	6	2	1	3
Fra 8,01 e 9,00	3	2		1
Superiore a 9,00	1	1		

* Si presume trattarsi di un aceto sofisticato, dato che questo campione presenta forti deficenze anche negli altri componenti.

Bitartrato di K °/₀₀

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 0,50	1			1 *
Fra 0,50 e 1,00	6	1	1	4
Fra 1,01 e 1,50	6	3	1	2
Fra 1,51 e 2,00	8	3		5
Fra 2,01 e 2,50	3	1	1	1
Fra 2,51 e 3,00	1	1		
Fra 3,01 e 3,50	1			1
Fra 3,51 e 4,00				
Fra 4,01 e 4,50	2	1		1
Superiore a 4,50	1			1

* Stesso campione di cui alla nota precedente.

Estratto °/oo

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 10,00	1			1 *
Fra 10,00 e 13,00	1		1	
Fra 13,01 e 16,00	2			2
Fra 16,01 e 19,00	7	2	1	4
Fra 19,01 e 22,00	5			1
Fra 22,01 e 25,00	5			3
Fra 25,01 e 28,00	6		1	3
Superiore a 28,00	2			2

* Stesso campione di cui alle due note precedenti.

Ceneri °/oo

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 1,00	1			1 *
Fra 1,00 e 1,50				
Fra 1,51 e 2,00	4	2		2
Fra 2,01 e 2,50	5	1	1	3
Fra 2,51 e 3,00	6	2		4
Fra 3,01 e 3,50	9	3	2	4
Fra 3,51 e 4,00	1	1		
Superiore a 4,00	3	1		2

* Stesso campione di cui alle tre note precedenti.

Alcalinità delle ceneri

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Fino a 2,00	1			1 *
Fra 2,01 e 2,50	3	3		
Fra 2,51 e 3,00	4	2		2
Fra 3,01 e 3,50	3		1	2
Fra 3,51 e 4,00	7	3	1	3
Fra 4,01 e 4,50	9	2	1	6
Superiore a 4,50	2			2

* Stesso campione di cui alle quattro note precedenti.

Manganese °/oo

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Inferiore a 0,50	1			1 *
Fra 0,51 e 1,00	4	1		3
Fra 1,01 e 1,50	3			3
Fra 1,51 e 2,00	3			3
Fra 2,01 e 2,50	3	1		2
Fra 2,51 e 3,00	6	3		3
Superiore a 3,00	1	1		

* Stesso campione di cui alle cinque note precedenti.

pH

	Totale	Di cui		
		casalinghi	di vinaccia	industriali
Fra 3 e 3,1	2	1		1
Fra 3,1 e 3,2	4	3	1	
Fra 3,3 e 3,4	11	4	2	5
Fra 3,5 e 3,6	12	2		10

Dalle tabelle precedenti, data la modesta quantità di campioni e le notevoli oscillazioni dei valori, non si possono ovviamente trarre conclusioni definitive. Ciò potrà essere fatto soltanto dopo un esame statistico dei dati riguardanti un più notevole numero di campioni.

Osservando comunque i dati di maggior ricorrenza si può compilare una tabella, di valore naturalmente relativo, da cui risultino più evidenti i limiti in cui è compresa la maggioranza dei campioni rispetto ad ogni componente analizzato:

		Totali su 29 campioni	Di cui		
			casalinghi	di vinaccia	industriali
Densità a 15° . . .	1,000–1,010	8	6	2	
	1,011–1,020	13			13
	Totale . . .	21			
Acid. tot. %	2,01–5,00	7	7		
	5,01–8,00	13			13
	Totale . . .	20			

		Totali su 29 campioni	Di cui		
			casalinghi	di vinaccia	industriali
Acid. volat. % . .	1,00–4,00	7	7		
	4,01–8,00	15			15
	Totale . . .	22			
Acid. fissa % . . .	0,20–1,00	24	7	3	14
Glicerina °/₀₀ . . .	3,01–9,00	26	9	3	14
Bitartrato di K °/₀₀	0,50–2,50	23	8	3	12
Estratto °/₀₀	16,01–22,00	12	6	1	5
	22,01 28,00	11	4	1	6
	Totale . . .	23			
Ceneri °/₀₀	1,51–2,50	9	3	1	5
	2,51–3,50	15	5	2	8
	Totale . . .	24			
Alcalin. ceneri . .	2,01–4,50	26	10	3	13
Manganese °/₀₀ . . .	0,51–2,00	10	1.		9
	2,01–3,00	9	4		5
	Totale . . .	19 *			
pH	3,2–3,4	10	7	3	
	3,4–3,6	10			10
	Totale . . .	20			

* Totale su 21 campioni, di cui 6 casalinghi e 15 industriali.

Osservando ogni singolo componente, esposto nella tabella di cui sopra, si possono trarre le seguenti considerazioni, il cui valore, come già è stato fatto presente, va messo in relazione con il limitato numero di campioni analizzati:

Densità a 15°

Negli aceti casalinghi è risultata inferiore rispetto agli aceti dell'industria probabilmente per il fatto, già ricordato in precedenza, che più che di veri aceti si tratta di vini più o meno fortemente spunti.

Acidità totale e volatile

Per questi dati vale la considerazione dianzi esposta.

Acidità fissa

I limiti riportati oscillano entro valori molto estesi, valori che hanno presentato una distribuzione progressiva abbastanza uniforme e senza differenze notevoli fra le varie categorie di aceti.

Glicerina

È stata notata una distribuzione progressiva abbastanza uniforme e senza differenze notevoli fra le varie categorie di aceti.

Bitartrato di K

I valori che hanno dato le maggiori frequenze non hanno palesato diversità notevoli fra le varie categorie di aceti.

Estratto

La grande maggioranza di campioni si è quasi equamente distribuita nelle due divisioni riportate nella tabella rispetto a questo costituente. La prima espone i limiti in cui oscillano mediamente, in fatto di estratto, i vini bianchi e rosati; la seconda i limiti per i vini rossi. Anche tra aceti casalinghi e aceti industriali non si sono palesate differenze notevoli.

Ceneri

Entro i limiti dei valori indicati non si notano sensibili differenze progressive e fra le varie categorie di aceti.

Alcalinità delle ceneri

Entro i limiti dei valori estremi indicati non si notano sensibili differenze progressive e fra le varie categorie di aceti.

Manganese

Si è notata una maggior ricchezza di detto costituente negli aceti casalinghi. A causa però della deficenza di liquido disponibile per le analisi, queste vennero necessariamente circoscritte ai campioni di aceto industriale, perciò non è possibile trarre in proposito deduzioni di un certo valore.

pH

È apparso leggermente superiore nei campioni di aceto industriale in confronto a quello di aceto casalingo.

RIASSUNTO

Sono stati analizzati 29 campioni di aceto provenienti da 7 provincie del Veneto; su detti campioni, 10 dei quali sono stati ottenuti con metodi casalinghi (aggiunta successiva di vino scarto nella botte contenente aceto in presenza della « madre »), 3 con lisciviazione di vinaccia acetita e 16 con metodi industriali (adoperando per 4 campioni tutoli di granoturco e per i restanti 12, trucioli di faggio), sono state eseguite 11 determinazioni (però s'è dovuto escludere quella dell'alcool per deficenza di materia prima).

Dato il modesto numero di campioni analizzati, non è possibile trarre delle conclusioni di un certo valore.

Si può tuttavia osservare che:

la densità è risultata di 1.010 a 1.020 negli aceti industriali e inferiore ai valori predetti in quelli casalinghi;

l'acidità totale e quella volatile sono risultate in genere entro i limiti rispettivamente legale e normale negli aceti industriali e inferiori al normale in quelli casalinghi;

l'acidità fissa non ha dato chiare delimitazioni;

la glicerina ha dato valori oscillanti in prevalenza dal 3 al 9 ‰, ma senza differenze notevoli, in linea di massima, fra i vari campioni;

l'estratto s'è comportato come il bitartrato potassico;

le ceneri hanno fornito dati che possono considerarsi normali; comunque esse hanno oscillato in prevalenza fra 1,5 e 3,5 ‰;

l'alcalinità delle ceneri non ha dato elementi di particolare rilievo;

il manganese sembra essere più abbondante negli aceti casalinghi che non in quelli industriali;

il pH è apparso leggermente superiore nei campioni di aceto industriale rispetto a quelli di aceto casalingo.

SUMMARY

INVESTIGATIONS ON THE COMPOSITION OF WINE VINEGAR

by Tullio De Rosa

An analysis has been made of 29 samples of vinegar coming from 7 provinces of the Veneto region. Eleven determinations have been executed on the samples, 10 of which were obtained with household methods (the successive addition of inferior wine in the cask containing vinegar in the presence of the ' mother '), 3 with lye treatment of dregs of acetified pressed grapes, and 16 with industrial methods (adopting for 4 samples maize cobs and for the remaining 12, beech chips). However it was necessary to exclude that of the alcohol through deficiency of raw material.

Given the modest number of samples analyzed, it is not possible to draw conclusions of a certain value.

However it is possible to observe that: —

the density gave results of 1.010 to 1.020 in the industrial vinegars, a value inferior to the aforesaid values in the household types;

the total and volatile acidities gave results in general within the respectively legal and normal limits of industrial alcohols and below normal in the household types;

the fixed acidity has not given clear delimitations;

the glycerine has given values ranging from 3-9 % but without notable differences in the maximums among the various samples;

the extract behaved like potassium bitartrate;

the ashes have furnished data which can be considered normal; however, they have oscillated prevalently between 1,5 and 3,5 %;

the alkalinity of the ashes has not given elements of any particular importance;

the manganese seems to be more abundant in the household vinegars than in the industrial ones;

the pH appears slightly superior in the samples of industrial vinegar than in the samples of household vinegar.

Ricevuto il 25 agosto 1951.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
E
LABORATORIO ANALISI SEMENTI
(Direttore: Ettore Mancini)
BOLOGNA

R. Baldoni e A. Canova

UN METODO PER IL RAPIDO RICONOSCIMENTO DEI SEMI DI BARBABIETOLA INFETTATI DA *PHOMA BETAE* (OUD.) FRANK

Il riconoscimento degli inquinamenti delle sementi da parte di microrganismi fungini o batterici sta assumendo una sempre maggiore importanza come elemento di giudizio della qualità delle sementi stesse.

La presenza infatti di simili inquinamenti può essere un indice di uno specifico stato di debilitazione del seme, conseguente, per esempio, ad un irrazionale modo di conservazione, oppure può documentare un fatto ancor più grave: la sua provenienza da colture affette da malattie delle quali esso seme diventa così il portatore ed il diffusore. Ciò a seconda che si tratti di germi a carattere saprofitario o parassitario.

Per tali ragioni l'esame dello stato di « sanità » delle sementi — almeno di alcuni tipi di esse — è oramai divenuto la norma, sancita anche da regole internazionali, nei laboratori di analisi più rinomati. E l'orientamento è di estenderlo ad ogni caso in cui appare praticamente possibile fare ad esso ricorso.

L'ostacolo maggiore alla realizzazione di questo tipo di esame è dato dalla relativa difficoltà o per lo meno dall'eccessivo impegno di materiale e di tempo che esso comporta, come pure dall'incertezza nel rilevamento dei dati che dovrebbe fornire.

La presente Nota è stata redatta appunto al fine di portare un contributo alla risoluzione di questi particolari aspetti dell'analisi delle sementi. In essa riferiamo i risultati ottenuti con un particolare metodo da noi applicato ai glomeruli di barbabietola per individuazione degli inqui-

namenti da *Phoma betae* (ma che potrebbe prestarsi alla ricerca di altri tipi di microrganismi e su altre sementi) che per le sue caratteristiche di rapidità e di sicurezza ci appare meritevole di essere segnalato.

Per una migliore interpretazione del funzionamento di tale metodo facciamo precedere una breve e sintetica rassegna dei criteri fondamentali su cui si basa, nella prassi dei laboratori d'analisi odierni, il controllo delle caratteristiche microbiologiche delle sementi agrarie.

Per l'individuazione di alcuni tipi di infezione è sufficiente l'osservazione macroscopica: ad esempio, in quelle da *Colletotrichum, Septoria, Ascochyta,* che determinano tacche di colore bruno-chiaro nettamente distinguibili.

Disgraziatamente questi casi sono in numero ridotto. La maggior parte delle infezioni, invece, non lascia scorgere nulla di macroscopico e richiede pertanto un esame più dettagliato con rilievi microscopici, e quindi una particolare attrezzatura di laboratorio.

Occorre in primo luogo porre il seme in adatte condizioni d'ambiente, specialmente di umidità e temperatura, idonee allo sviluppo del fungo parassita. Metodo generale, quindi, è quello di porre su di una piastra di zinco bucherellata una carta da filtro inumidita, distribuirvi uniformemente i semi e ricoprire con un altro foglio di carta bagnata; attendere una quindicina di giorni per fare l'esame microscopico.

Altri metodi sono ancora più precisi e richiedono una più accurata manualità e più tempo per la loro esecuzione.

Per svelare l'infezione di *Fusarium culmorum* nelle cariossidi di frumento si segue il metodo Hiltner, consistente nel seminare queste sotto uno strato di tre centimetri di polvere di mattone: il fusticino da chicco fortemente infetto non riesce a raggiungere la superficie e cresce contorto in mezzo allo strato pulverulento, mentre quelli colpiti in modo leggero escono alla superficie, ma presentano la base necrotizzata.

La presenza dell'*Helminthosporium avenae,* sulle cariossidi di avena, si può mettere in evidenza distribuendo sul fondo di una scatola Petri — preventivamente ricoperta con una carta da filtro inumidita — quindici « semi », ricoprendola con tela bagnata e mettendola in termostato a 22° C. Il quarto giorno le cariossidi vengono tolte dalla piastra e sottoposte, per venti minuti, all'azione di radiazioni ultraviolette con lampada Hanovia; ciò, secondo Dillon Weston (1933), favorirebbe la formazione dei conidi. Al nono giorno i « semi » vengono sottoposti all'esame microscopico,

mediante binoculare, per rilevare sulla superficie le fruttificazioni fungine. Per facilitare questo esame vengono privati del fusticino.

Altro metodo, usato generalmente per la canapa, consiste nel mettere dieci semi su di uno strato di agar-malto in scatola Petri ed incubare, come al solito, in termostato a 22° C. Particolari cure occorre prestare alla sterilità dei ferri che si utilizzano per deporre i semi nelle piastre, sia dei termostati che vanno trattati con vapori di formaldeide oppure con formalina al 40 % e permanganato potassico. Al quinto giorno le scatole vengono tolte dal termostato e ispezionate per l'identificazione delle colonie eventualmente formatesi attorno ai semi.

Due metodi vengono applicati per l'esame delle cariossidi di cereali in genere.

Il primo (metodo microscopico) permette la rilevazione dei funghi che limitano l'attacco ai tessuti degli involucri e che quindi su di essi formano le loro fruttificazioni. Consiste nel risciacquare un chicco (previo eventuale allontanamento delle glume) in una goccia d'acqua, deposta su di un vetrino portaoggetti ed esaminare il contenuto della goccia al microscopio.

Il secondo (metodo colturale) è destinato all'individuazione di quei parassiti che permeano i tessuti interni dei chicchi. Questi vengono sottoposti ad una blanda sterilizzazione delle superficie, immergendoli per dieci minuti in una soluzione all'0,1 % di cloruro di mercurio, indi vanno abbondantemente lavati con acqua sterile. Vengono poi sezionati longitudinalmente e posti in scatole su agar-malto. L'ispezione delle scatole per l'identificazione delle colonie dei parassiti ha luogo dieci giorni dopo circa.

Nel caso speciale del seme di barbabietola, che è quello che più interessa per il nostro discorso, l'infezione di *Phoma betae* viene svelata col metodo della camera umida: cioè tenendo i semi per una quindicina di giorni in un ambiente umido, per esempio su carta da filtro bagnata e osservandoli poi al binoculare per la ricerca dei picnidi del parassita che nel frattempo si sono differenziati.

Questo metodo però presenta varî inconvenienti. Prima di tutto il dover osservare i singoli semi microscopicamente è operazione di una certa difficoltà, soprattutto per un occhio non molto esercitato; inoltre richiede tempo quasi sempre superiore a quello concesso ai laboratori per dare il referto dell'esito degli esami. In secondo luogo non sempre i picnidi di *Phoma* sono distinguibili sui glomeruli, sia perchè essi sono

Fig. 1. — Parte di una scatola di coltura contenente agar semplice addizionato di foglie di erba medica e paglia di frumento sterilizzata all'ossido di propilene, in cui sono stati fatti germinare glomeruli di barbabietola infettati da *Phoma betae*. Il fungo è cresciuto con rigogliosità sui pezzi di erba medica; i suoi picnidi si distinguono chiaramente osservando la scatola per trasparenza. (La presente fotografia è stata eseguita appunto per trasparenza).

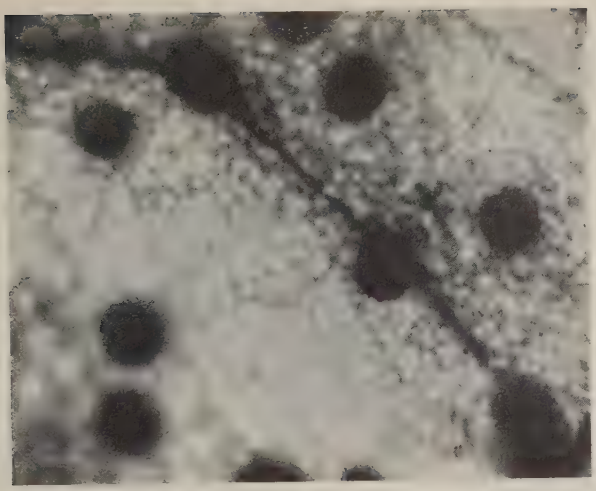


Fig. 2. – Particolare della figura 1: vi si distingue la conformazione dei corpi fruttiferi di *Phoma betae* maturi, formatisi sui tessuti fogliari di erba medica.

di un colore scuro, come succede per quelli di varietà di provenienza non italiana, sia perchè i semi durante la permanenza in camera umida si ricoprono di vegetazioni fungine saprofitarie tipo *Alternaria, Rhizopus, Fusarium,* ecc.; ciò quando si ha a che fare con partite di semi raccolti da parecchio tempo e che sono stati conservati in cumuli o in sacchi in ambienti chiusi.

Di fronte a tali inconvenienti — apparsi in prove preliminari di saggio di semi di bietola usati nell'ultima campagna agraria e sospetti di inquinamento di *Phoma betae* — abbiamo applicato il seguente procedimento.

In scatole Petri sterilizzate si mettono alcune foglioline essiccate di erba medica, preventivamente sterilizzate, sottoponendole per tre o quattro ore ai vapori di ossido di propilene; si versano poi 5 mm. di agar-agar all'1,5 %, a caldo; si agita la scatola in modo che l'agar e le foglioline si distribuiscano uniformemente sul fondo; entro tale agar si affondano, infine, leggermente dieci semi e si incubano ad una temperatura di 20° C.

In tali condizioni il fungo fruttifica abbondantemente, in modo tutto speciale, e cioè localizzato sui tessuti fogliari della medica o nell'agar

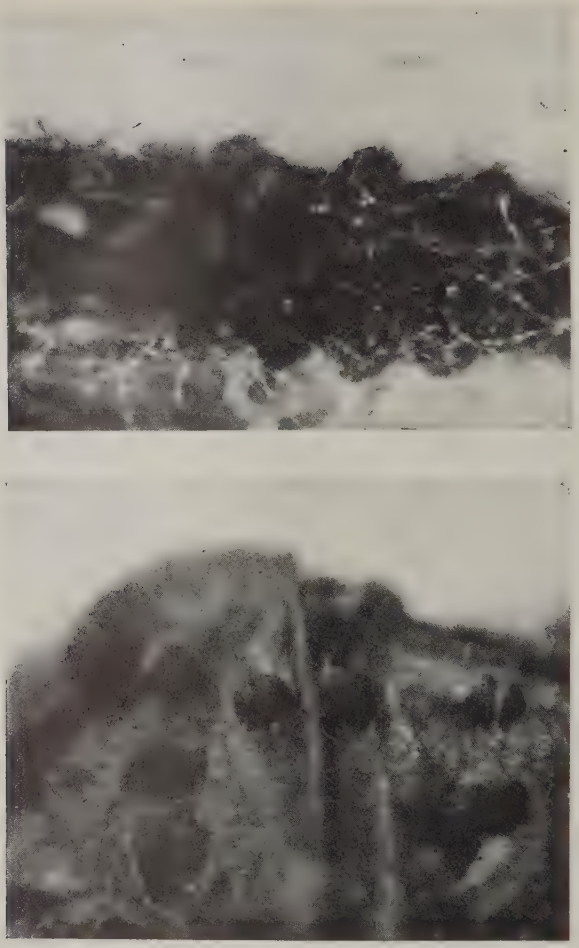


Fig. 3. – Picnidi di *Phoma betae* differenziatisi alla superficie di un glomerolo (sopra) e di una radichetta (sotto) di barbabietola in camera umida.

immediatamente a questi vicina, dove compare come minuti puntini bruno-chiari (quasi trasparenti), con una goccia di liquido opaco in cima, facilmente distinguibili ad occhio nudo, specialmente guardando per trasparenza le scatole poste contro una sorgente luminosa. Al contrario le muffe, i saprofiti crescono molto debolmente e comunque rimangono solo sul glomerulo o nelle immediate adiacenze di questo; in ogni

caso non riescono mai a mascherare le fruttificazioni picnidiche di *Phoma* presenti sulle foglie di erba medica.

Con questo metodo è possibile rilevare con sicurezza anche inquinamenti che, data la loro limitatezza, sfuggono invece all'osservazione diretta microscopica. I tessuti dell'erba medica sembra quasi che « tirino fuori » il fungo dai glomeruli.

Il momento migliore per eseguire le osservazioni e fare i rilievi è dopo un periodo d'incubazione di 8 giorni; allora la fruttificazione picnidica è al suo *optimum* di sviluppo. In pochi minuti anche una persona inesperta della tecnica micologica può esaminare decine di campioni.

RIASSUNTO

È descritto un metodo di esame dei semi infettati, particolarmente adatto a svelare la presenza di *Phoma betae* sui glomeruli di barbabietola.

Tale metodo consiste nel porre i glomeruli in una scatola Petri su agar-agar addizionato di foglioline di erba medica, preventivamente sterilizzate con vapori di ossido di propilene, e incubarli per otto giorni a 20° C.

Ph. betae fruttifica abbondantemente e prevalentemente sulle foglie di erba medica, in modo che osservando le scatole per trasparenza, contro una sorgente luminosa, riesce facile rilevarne la presenza.

Si mettono in evidenza i vantaggi che il metodo descritto presenta in confronto a quelli usati comunemente per l'identificazione di questo tipo di parassita.

SUMMARY

A METHOD FOR THE RAPID DETECTING OF INFECTION OF *PHOMA BETAE* (OUD.) FRANK ON SUGAR-BEET SEEDS

by R. Baldoni and A. Canova

A method of examination of the infected seeds, especially fitted to detect the presence of *Phoma betae* (Oud.) Frank on sugar-beet seeds, is described.

This method consists of putting the seeds in the Petri-dishes on agar to which pieces of dried alfalfa leaves sterilized with propilene oxide have been added and then incubating them for 8 days at 20° C.

The *Phoma* fructifications which appear abundantly and especially on alfalfa leaves are very easy to see by transmitted light.

The advantages of the described method compared with those generally used for the identification of this parasite are emphasized.

Ricevuto il 29 agosto 1951.

ISTITUTO AGRONOMICO PER L'AFRICA ITALIANA
(Direttore: Armando Maugini)
FIRENZE

Tito Manlio Bettini

L'EREDITABILITÀ DELLA PRODUZIONE DEL FIOCCO NEL CONIGLIO ANGORA *

Dopo avere illustrato un libro genealogico destinato ad un grande allevamento di conigli Angora, studiato il significato delle forniture alle orecchie rispetto alla produzione ponderale (criterio tenuto in grande considerazione da molti allevatori per una supposta, ma in realtà dimostrata priva di fondamento, relazione fra lo sviluppo dei ciuffi e la produzione), dopo avere eseguito ricerche sulle caratteristiche morfologiche, istologiche e fisico-tecnologiche delle fibre Angora, sulla produzione annuale del fiocco e sulla sua variazione ambientale rispetto al sesso, all'età, all'attività riproduttiva e all'annata, sulla relazione fra la produzione e il peso vivo, sul modo di accrescimento delle fibre, sulla relazione fra la lunghezza delle fibre e la produzione annuale, e infine sui diversi tipi di fiocco prodotti in Italia in relazione alla qualità e alla provenienza (Bettini, 1946, 1947, 1948-*a*, 1948-*b*, 1949-*a*, 1949-*c*, 1949-*d*, 1950-*a*, 1950-*b*, 1950-*c*, 1950-*d*, 1951-*a*), ci siamo proposti di studiare l'ereditabilità della produzione ponderale del fiocco. Ricordiamo che il criterio dell'ereditabilità è considerato uno dei più importanti nella genetica delle popolazioni zootecniche, in quanto è l'unica misura, oggi disponibile, che consenta di valutare e di prevedere l'entità del miglioramento ottenibile mediante selezione di massa, note che siano alcune caratteristiche di una popolazione, ed è un mezzo assai valido per decidere quale sia presumibilmente il miglior piano di riproduzione da usare. Dice Lush (1940) **: « Una

* Ricerche eseguite mercè una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e e delle Foreste.

La serie completa dei dati delle osservazioni utilizzati in questo lavoro è stata depositata negli archivi dell'Istituto Agronomico per l'Africa Italiana.

** La versione dall'originale americano non è stata eseguita alla lettera, perchè una traduzione letterale, a causa della diversa struttura delle due lingue, non avrebbe consentito una sufficiente chiarezza di concetti.

stima dell'ereditabilità di un carattere, che sia degna di fede, è forse la più importante considerazione da tenere presente nel decidere quale dei possibili piani di riproduzione sia presumibilmente il più efficace. Se il piano di riproduzione è puramente quello di una selezione di massa, il progresso per generazione che è lecito attendersi è pari soltanto alla frazione ereditabile (in senso ristretto) del differenziale selettivo. Se le caratteristiche desiderate sono altamente ereditabili, il miglior metodo sarà una selezione di massa, con assai scarso uso di genealogie, parentele, prove della discendenza e consanguineità stretta. Se l'ereditabilità è bassa e non vi è molta variazione epistatica, il miglior piano di riproduzione consisterà nel grande impiego delle genealogie e ancora più nelle prove della discendenza, nonchè nella selezione su base familiare, senza ricorso alla consanguineità stretta più di quanto è necessario per costituire famiglie distinte o per potere trarre completo profitto dalle prove della discendenza. Se, al contrario, vi è poca varianza additiva ma molta varianza epistatica, occorrerà fare notevole uso della consanguineità stretta allo scopo di formare linee distinte l'una dall'altra, e successivamente selezionare entro le linee e incrociare fra le linee e infine costituire nuove linee in base ai risultati più favorevoli di questi incroci ». Ricordiamo ancora che l'ereditabilità è la frazione della varianza fenotipica da attribuire a differenze fra gli individui dovute a differenze nell'eredità. Notizie più ampie in lingua italiana sul significato e sui metodi di stima dell'ereditabilità sono state esposte recentemente in un altro lavoro, cui si rimanda (Bettini, 1951-*b*).

Fra i diversi metodi usabili, abbiamo optato, in questa indagine, per quello della regressione, entro le famiglie dei riproduttori maschi, delle figlie sulle madri *, che è sembrato il più adatto al nostro scopo. Tale regressione analizza soltanto la varianza entro le famiglie dei riproduttori, non quella fra le famiglie. Il doppio del coefficiente medio di regressione nelle diverse famiglie, secondo il principio di Schmidt dell'« incrocio diallelico », dà una stima della frazione della varianza causata dagli effetti medi (gli effetti additivi) che i geni hanno singolar-

---

* Nel calcolo di tale regressione sorge un piccolo problema metodologico dovuto al fatto che ad ogni madre possono corrispondere uno o anche più figli. Quale via seguire (cioè se ripetere tante volte la madre quanti sono i figli o mediare i figli di ogni madre) non è detto nelle opere di statistica biologica nè nei lavori speciali che trattano di ereditabilità. Durante la mia permanenza (febbraio-marzo 1951) presso il prof. J. L. Lush nell'Iowa State College, ad Ames (Iowa, U.S.A.), ho posto, — e discusso — il quesito allo stesso prof. J. L. Lush, al prof. G. W. Snedecor, al prof. L. N. Hazel e ad altri. È stato concluso che le due procedure portano allo stesso risultato (ma, ovviamente, occorre tenere conto di quale delle due è stata seguìta nel computo del numero dei gradi di libertà).

mente nella popolazione. La stima comprende pure una piccola parte della varianza causata da interazioni epistatiche. In tale guisa restano classificate come non ereditarie le differenze fra le madri causate dalle deviazioni dello schema additivo per dominanza e la maggior parte di quelle causate da deviazioni epistatiche. La stima, quindi, coincide abbastanza bene col criterio dell'ereditabilità in senso ristretto.

Una delle possibili fonti di errore, connessa con questo metodo, è dovuta al fatto che i figli, le cui produzioni, per anni di vita corrispondenti, avvengono a qualche anno di distanza rispetto a quelle delle rispettive madri, possono trovarsi in condizioni ambientali più favorevoli o comunque diverse. Da questo punto di vista il nostro caso è da considerare particolarmente fortunato. Gli animali che sono stati oggetto della nostra indagine appartengono all'allevamento Fontenuova del dott. C. Ragionieri di Sesto Fiorentino *. Qui i criteri dell'allevamento e la tecnica dello sfruttamento degli animali, gli alimenti usati nonchè la tecnica del razionamento sono rimasti pressochè invariati non soltanto nei diversi anni, cui i dati di produzione che abbiamo utilizzato si riferiscono, ma anche nelle diverse stagioni dell'anno. Per quanto concerne l'alimentazione in particolare, questa è consistita e consiste in una razione tipo, secca e granulare, già in uso da diversi anni e rimasta pressochè immutata nel tempo. È già stato messo in luce (Bettini 1949-*a*) che, almeno nel predetto allevamento, le diverse annate non influiscono significativamente sulla produzione media delle singole categorie di animali (maschi, femmine, ecc.), e ciò, a nostro avviso, va attribuito soprattutto alla costanza nell'alimentazione. L'errore al quale abbiamo accennato, pure non potendo essere completamente escluso, è da ritenere in ogni caso modesto.

Tecnica dell'indagine

I dati di produzione sono stati riuniti per famiglia. Scelto un certo numero di riproduttori maschi, non legati fra loro da stretta parentela (non è da escludere, anzi è probabile, una leggera comune parentela coi remoti capostipiti dell'allevamento), sono stati raccolti i dati delle produzioni annuali delle femmine colle quali essi sono stati accoppiati e quelli delle rispettive figlie, tenuto conto degli anni di vita cui le produ-

---

* Esprimo ancora una volta al dott. Ragionieri la mia gratitudine per avermi autorizzato ad usare alcuni dati dei controlli funzionali ed a rendere note altre notizie riguardanti il suo allevamento.

zioni stesse si riferivano. Come era prevedibile, il numero delle femmine accoppiate ad ogni maschio (o comunque di quelle che risultarono utilizzabili ai fini dell'indagine), il numero delle figlie * e il numero degli anni di controllo della produzione disponibili per ciascun animale non sono apparsi uguali. I dati di produzione dei quali siamo venuti in possesso si riferivano al secondo, al terzo, al quarto ed eccezionalmente al quinto anno di vita (di proposito abbiamo trascurato il primo, il quale non è paragonabile agli altri per il numero delle raccolte del fiocco, che sono al massimo tre per i nati nel primo trimestre). Avremmo potuto prendere in considerazione anche i figli maschi, correggendone le produzioni rispetto alle femmine coi fattori di correzione già studiati (Bettini, 1949-a), ma abbiamo preferito non farlo per non introdurre una fonte di errore che poteva essere evitata. Ci siamo invece limitati a considerare le sole femmine, apportando, come unica normalizzazione, la correzione, per quelle interessate, della produzione rispetto all'attività riproduttiva. Non abbiamo ritenuto, al contrario, di normalizzare le produzioni rispetto all'età, perchè uno dei nostri scopi — come diremo più avanti — era quello di studiare se ed eventualmente in quale misura la stima della ereditabilità è influenzata dal numero degli anni di produzione presi in esame: in altre parole, nel caso che essa sia stimata in base a uno solo (e per questo abbiamo scelto il secondo, sia per le madri come per le figlie, e allora ogni correzione era superflua), oppure sulla media di due o più anni consecutivi a partire dal secondo (e ancora la correzione sarebbe risultata praticamente inutile). La correzione rispetto all'età avrebbe introdotto, in ogni caso, una fonte di errore che abbiamo ritenuto preferibile evitare.

Il fatto che il numero delle madri, delle figlie e delle osservazioni non siano risultati uguali per tutti i gruppi e per i diversi soggetti è una condizione assai frequente, per non dire quella addirittura prevalente, in ogni sperimentazione zootecnica, quando questa è basata sopra osservazioni ripetute. In ciò, a nostro avviso, risiede uno dei motivi che rendono questo genere di sperimentazione, nel nostro campo, così difficile o comunque spesso tanto più complessa e laboriosa di una analoga sperimentazione, ad esempio, in fitotecnica, dove è più agevolmente possibile

---

* Nelle nidiate dei conigli alla nascita (come talora anche in quelle dei maiali) si osserva non di rado una netta prevalenza dei maschi o delle femmine, e non mancano neppure casi in cui esse sono costituite esclusivamente degli uni o delle altre. Il fenomeno è degno di interesse in quanto autorizza a supporre l'esistenza di gemelli monozigotici. Per quanto ora ci riguarda, le femmine per le quali erano disponibili soltanto dati di produzione relativi a figli maschi non furono prese in considerazione.

preordinare e realizzare esperimenti inquadrabili in modelli matematici anche notevolmente complessi *. Non sempre gli ostacoli che situazioni del genere comportano sono, da un punto di vista puramente metodologico, insuperabili, ma non di rado è giocoforza o rinunciare ad una analisi completa o ad una parte dei dati, quando non sia necessario fare l'uno e l'altro. Ciò fa sì che anche se il complesso delle osservazioni disponibili è apparentemente notevole, quelle che in definitiva risultano realmente utilizzabili si riducono più o meno largamente. Anche dopo avere scartato i soggetti che per un motivo o per l'altro non si prestavano al caso nostro, avemmo a disposizione individui con due, o tre, o quattro e, sia pure eccezionalmente, anche con un solo anno di controllo (con ciò si intende il secondo, perchè il primo, come è stato detto, fu scartato). In tali condizioni, ai fini della stima dell'ereditabilità due vie apparivano perseguibili: o considerare per le figlie come per le rispettive madri soltanto un anno di produzione, o considerare per entrambe le medie di vita, ossia le produzioni medie annuali ricavate dalle medie delle produzioni di due o più anni consecutivi, e in pratica di quanti ne erano disponibili (e ciò in ogni caso, anche quando cioè il numero degli anni su cui la media era calcolata non era esattamente uguale fra gli individui e rispetto alle coppie madre-figlia). Di fatto sono state seguite entrambe le vie, al fine di saggiare come la stima dell'ereditabilità ne era influenzata, e, quindi, indirettamente, quanto la produzione del fiocco, stimata in base ad un solo anno (ma sempre il medesimo) di vita, fosse degna di fiducia nell'esprimere la reale capacità produttiva di un animale. A nostro modo di vedere, il problema, al quale abbiamo accennato, è di notevole interesse e per la valutazione della produzione del fiocco Angora e, verosimilmente, per la valutazione di qualsiasi produzione o servigio in qualsiasi specie domestica (Bettini, 1950-*e*).

---

* Ovviamente, in un caso come il nostro e in tutti quelli in cui si utilizzano, per esempio, i dati dei libri genealogici di razza o di associazioni di razza (che tanto, soprattutto negli Stati Uniti d'America, hanno contribuito e contribuiscono — malgrado le loro inevitabili deficienze — alle indagini e allo sviluppo delle conoscenze sulla genetica delle popolazioni zootecniche), non è possibile preordinare il piano sperimentale. I dati sono quelli che sono (gli scopi per cui essi sono stati raccolti sono generalmente diversi), e l'unica cosa da fare è di utilizzarli nel modo migliore. Ma ci sembra che quanto è stato detto nel testo valga sostanzialmente anche per l'esperimento pianificato (salvo casi molto semplici), giacchè la diversa fecondità, la morte di qualche animale ed altre innumerevoli cause fanno sì che non tanto facilmente alla fine dell'esperimento il ricercatore potrà disporre del numero delle osservazioni nei singoli gruppi e di individui nei diversi gruppi conformi al modello matematico del disegno sperimentale dal quale era partito, e sul quale si basano l'analisi e l'interpretazione dell'esperimento stesso. I dati saranno utilizzabili ugualmente, ma spesso occorrerà ripiegare su un'analisi meno completa di quella prevista all'inizio.

La ripetibilità delle osservazioni*

Nella tabella I sono riportati i coefficienti di correlazione fra le produzioni a tre età:

Tabella I

Coefficienti di correlazione e coefficiente della correlazione multipla fra le produzioni di fiocco in tre annate successive negli stessi animali.

Anni di produzione	Gradi di libertà	r	R
2° col 3°	37	0,41 *	
2° col 4°	37	0,49 *	
3° col 4°	37	0,56 *	
2° col 3° col 4°	36		0,63 *

* t, tenuto conto dei gradi di libertà, significativo all'1 per cento.

È chiaro che esiste una correlazione positiva fra le produzioni del fiocco alle diverse età considerate (ed è anche probabile — pure non essendo lecito affermarlo senz'altro sulla base dei soli elementi esposti — che il valore della correlazione aumenti con l'età), ma considerati i valori relativamente modesti dei coefficienti trovati, dobbiamo concludere che la ripetibilità non è molto elevata, ossia che l'entità della produzione alle diverse età, in ogni singolo animale, è un attributo solo moderatamente costante. In altre parole, il valore della produzione di un anno di vita non sembra completamente degno di fiducia nell'esprimere una misura soddisfacente della reale capacità produttiva di un animale, anche qualora venga esclusa la produzione del primo anno di vita e siano stati normalizzati i dati rispetto all'attività riproduttiva, come nel caso nostro. Può anche essere che ciò non sia peculiare alla sola produzione del fiocco nel coniglio Angora ma abbia un significato più generale. I nostri valori sulle ripetibilità sono infatti press'a poco dello stesso ordine di grandezza di quelli trovati da Johnson e Lush (1942) per la valutazione mor-

* Dal punto di vista dell'illustrazione del criterio, l'esempio riportato nel testo non è forse il più efficace, ma la forma prescelta era l'unica che si adattasse al caso nostro. La ripetibilità si può stimare o in base ai singoli coefficienti di correlazione (come nel nostro esempio) o da un particolare coefficiente di correlazione (cosiddetto intraclasse) che si ricava dai componenti della varianza, quando sia possibile frazionarla rispetto alle fonti di variazione prese in esame, e i quadrati medi attribuibili a queste siano significativi. Riservandoci di illustrare più completamente il criterio in un'altra occasione, se si presenterà, per chi volesse approfondire l'argomento rimandiamo agli esempi illustrati nella letteratura americana recente (es., Briquet e Lush, 1947).

fologica mediante punteggio e per la stessa produzione lattea nelle vacche da latte a diverse età. In base ai valori della ripetibilità sopra esposti si dovrebbe anche presumere che la stima dell'ereditabilità calcolata sulla base delle medie di vita dovrebbe avere un valore più attendibile di quella determinata su un solo anno di produzione.

L'ereditabilità stimata sulla base della produzione del solo secondo anno di vita

Dal punto di vista della valutazione dei riproduttori, è chiaro che la stima del valore fenotipico di un animale rispetto alla sua capacità produttiva dovrebbe essere eseguita ad una età la più precoce possibile. Per quanto riguarda il fiocco Angora, la produzione del primo anno di vita è stata scartata senz'altro, perchè non ritenuta in nessun caso degna di fiducia *. L'anno di produzione più precoce risultava perciò il secondo. In più, i dati di produzione relativi a quest'anno erano disponibili per tutti gli animali indistintamente. Ciò dà ragione del perchè, nel computo della stima dell'ereditabilità basata sopra un solo anno di produzione, sia stato prescelto il secondo.

Nella tabella II è riportata l'analisi della covarianza della produzione del fiocco nelle famiglie di 10 riproduttori eseguita in base alle produzioni del solo secondo anno di vita per le figlie come per le madri:

Tabella II

Analisi della covarianza della produzione del fiocco in 10 famiglie di conigli Angora.

Fonte della variazione	Gradi di libertà	Somme dei quadrati e dei prodotti			Errori di stima		
		Sx^2	Sxy	Sy^2	Somma dei quadrati	$g.\ l.$	Quadrato medio
Totale	49	245588	— 1639	77670	77661	48	
Famiglie	9	70558	806	14982			
Entro le famiglie .	40	175030	— 2445	62688	62654	39	1606,5
					15007	9	1667,5

* Osserviamo incidentalmente che Johnson e Lush (1942) hanno trovato, nella valutazione mediante punteggio delle vacche da latte, che il valore della ripetibilità è minimo per il primo anno di vita ed aumenta per quelli successivi (fino ad una certa età, mentre in seguito tende a declinare nuovamente).

Il coefficiente di regressione stimato entro le famiglie è — 0,0139. Identico risultato fu ottenuto (e ciò è servito di riprova) calcolando il coefficiente di regressione medio come media dei coefficienti di regressione in ogni famiglia. Alla prova del t, il coefficiente è risultato non significativo. Il valore della ereditabilità, stimata in base a tale coefficiente, appare dunque nullo (ricordiamo che l'ereditabilità può teoricamente variare da zero a uno). Non è la prima volta che una stima di ereditabilità ha dato un valore di quest'ordine di grandezza (e la letteratura ne fornisce qualche esempio), ma nel nostro caso essa è sembrata in netto contrasto coi risultati conseguiti per mezzo della selezione nell'allevamento, risultati positivi e piuttosto rilevanti, il che autorizza a pensare (dato il modo di riproduzione applicato nello stesso allevamento, che fu, salvo un modesto uso delle genealogie, essenzialmente massale fino a tutto il 1948), che, almeno nelle condizioni proprie dell'allevamento considerato, l'ereditabilità effettiva della produzione del fiocco debba essere stata, al contrario, molto elevata. Vero è che l'allevatore non si è basato, nella valutazione dei riproduttori per la produzione, sui dati di un solo anno, ma ha considerato, ogni qual volta ha potuto, la produzione media di due o più anni. La stima anzidetta ci ha dunque lasciati perplessi e dubbiosi, tanto da invogliarci a ripetere l'analisi tenendo conto, sempre per le stesse 10 famiglie già prese in esame, di tutte le femmine utilizzabili e, per ciascuna di esse, di tutti i dati di produzione disponibili. Senza analizzare, per ragioni metodologiche, la covarianza, abbiamo proceduto al calcolo del coefficiente di regressione famiglia per famiglia e al calcolo del coefficiente di regressione medio per tutte le famiglie. Questo procedimento, come abbiamo avvertito, porta allo stesso identico risultato, in quanto analizza soltanto la varianza entro le famiglie.

L'ereditabilità stimata sulla base delle medie di vita

Stimato sulla base di due o più anni consecutivi di produzione (eccezionalmente di uno solo, il secondo), sia per le madri come per le figlie, il coefficiente di regressione entro le famiglie è risultato 0,375 ($t = 2{,}57$, significativo al 5 per cento, tenuto conto dei gradi di libertà). L'ereditabilità stimata è dunque il doppio, ossia 0,75. Ciò vale a dire che, se la stima è degna di fede, circa il 75 per cento delle differenze nelle produzioni dei diversi individui, misurate sulle medie di vita, è da attribuire a differenze fra gli individui dovute all'eredità, mentre circa un quarto delle differenze nelle produzioni dei diversi individui è da attribuire a differenze fra gli individui dovute all'ambiente. Da un punto di vista tecnico, ciò significa ancora che, se la produzione di un animale

è misurata sulla base delle medie di vita (praticamente di due o tre anni consecutivi, escluso il primo, nel nostro caso), essa mediamente rispecchia per circa i tre quarti la capacità produttiva che effettivamente un animale può trasmettere alla discendenza. In altre parole, un individuo che manifesti una produzione elevata è effettivamente da considerare, con buona probabilità, un animale superiore rispetto alla produzione, mentre quello che esibisce una media di produzione bassa è da ritenere, dal punto di vista produttivo, un animale inferiore. Al contrario, se la capacità produttiva è stimata in base alla produzione di un solo anno, l'allevatore può assai più facilmente sbagliare sia nel giudicare superiore un animale la cui produzione misurata in quell'anno sia stata elevata sia nel giudicarlo inferiore nel caso opposto.

Modo di usare una stima dell'ereditabilità e tentativo di riprova

Il modo di impiego di una stima dell'ereditabilità è già stato illustrato in un'altra occasione (Bettini, 1949-*b*). Facciamo ora seguire un nuovo esempio, tratto da elementi del caso nostro, esempio che può servire come tentativo, diciamo così, di pratica riprova dell'attendibilità del valore trovato.

I dati di produzione dei soggetti esaminati in questa indagine si riferiscono agli anni 1946 per le madri e ai successivi per le figlie e anche per le madri con due o più anni di controllo. Nel 1946 la produzione media per capo all'anno è stata di gr. 324,1. La deviazione standard fu gr. 74,6. Sulla scorta di questi soli elementi, e avendo a disposizione la nostra stima dell'ereditabilità, è possibile ricavare una presunzione di quella che sarebbe dovuta essere la produzione media dell'allevamento negli anni successivi applicando una selezione di massa. Per il computo, ammettiamo anzitutto che la consistenza dell'allevamento, negli anni successivi al 1946, sia rimasta invariata, il che significa, salvo eventi eccezionali, quota di rimonta costante. Ammettiamo che questa sia stata di circa il 25 per cento per le femmine e di circa il 2 per cento per i maschi *. Ammet-

* Per generazione, il che significa, nel caso nostro, l'8-9 per cento all'anno. È ovvio che la quota di rimonta, a parità di altre condizioni, può variare entro limiti piuttosto ampi in relazione alla fecondità e alla mortalità infantile. Abbiamo scelto il 25 per cento, cioè la quota di rimonta più elevata fra quelle indicate nella tabella III (che noi stessi abbiamo formulato), perchè la prolificità media nella razza Angora è piuttosto bassa e perchè nell'allevamento considerato vengono conservati in ogni caso non più di quattro piccoli per portata. In tali condizioni, con una rimonta dell'8-9 per cento all'anno, si arriva appena a mantenere stazionaria la popolazione, ammettendo che tutti i soggetti conservati alla nascita arrivino a maturità.

tiamo ancora, per semplicità, che la scelta dei riproduttori sia stata basata pressochè esclusivamente sulla produzione. L'intervallo fra due generazioni successive sia stato mediamente di 3 anni. Nella tabella III è indicato come varia la quota di rimonta in relazione alla specie e ad altre condizioni, in una popolazione stazionaria, mentre la tabella IV

Tabella III

Quota di rimonta richiesta per conservare costante la consistenza di una popolazione (da Bettini [1949*b*] su dati di Lush [1947], cui sono stati aggiunti quelli relativi al coniglio).

Specie	Intervallo medio fra le generazioni *	Percentuale di progenie allevata necessaria per la rimonta di una popolazione stazionaria	
		Femmine	Maschi
Cavallo	10–13 anni	15–45	2–4
Bovini da carne	$4\frac{1}{2}$–5 »	40–50	3–5
Bovini da latte	4–$4\frac{1}{2}$ »	50–65	4–6
Pecora	4–$4\frac{1}{2}$ »	45–55	2–4
Maiale	$2\frac{1}{2}$ »	10–15	1–2
Coniglio	2–4 »	15–25	1–2
Pollo	$1\frac{1}{2}$ »	10–15	$1\frac{1}{2}$–2

illustra come varia il differenziale selettivo massimo in relazione alla percentuale della popolazione da conservare per la stessa rimonta. (A rigore, avremmo potuto calcolare direttamente il differenziale selettivo ed altri dati in base agli elementi concreti disponibili nell'allevamento, ma abbiamo preferito affidarci esclusivamente ai dati teorici, e ciò per il motivo che non tanto facilmente, in casi analoghi, il ricercatore sarà così fortunato da potere rintracciare, ammesso pure che siano stati registrati, tutti gli elementi necessari ad una riprova del genere). Dai dati della tabella IV appare che il 25 per cento delle femmine, da usare nella rimonta, supera la produzione media dell'allevamento di circa 1,30 volte la deviazione standard, il che nel nostro caso equivale a (74,6 × 1,30 =) gr. 97,0 di fiocco, e che la produzione del 2 per cento dei maschi scelti per la riproduzione supera la produzione media dell'allevamento di 2,44

* L'intervallo medio fra le generazioni è computato considerando una generazione « l'età media dei genitori alla nascita dei figli » (Lush, 1947).

Tabella IV

Differenziale selettivo massimo (espresso come deviazione standard) in relazione alla percentuale di popolazione da conservare per la rimonta (da Lush, 1947).

Percentuale di popolazione da conservare per la rimonta	Differenziale selettivo
0,90	0,20
0,80	0,35
0,70	0,50
0,60	0,64
0,50	0,80
0,40	0,96
0,30	1,16
0,20	1,40
0,10	1,76
0,05	2,06
0,04	2,16
0,03	2,27
0.02	2,44
0,01	2,64

volte la deviazione standard, il che, nel caso nostro, equivale a (74,6 × 2,44 =) gr. 182,0 di fiocco. Ammettendo uguale l'eredità da parte dei due genitori, il differenziale selettivo rispetto alla successiva generazione doveva essere $\frac{97,0 + 182,0}{2}$ = gr. 139,5 di fiocco. Dato che l'ereditabilità stimata è 0,75, l'incremento di produzione nella generazione successiva doveva essere pari a circa i tre quarti di questo valore, e cioè approssimativamente di gr. 104,6 e, visto che l'intervallo medio fra le due generazioni successive è stato stimato pari a tre anni, l'incremento annuale doveva essere un terzo di questo valore, ossia di gr. 34,9 circa di fiocco. Tutto ciò se nel periodo considerato la consistenza della popolazione e quindi la quota di rimonta (escludendo particolari evenienze, come mortalità eccezionale per epizoozie, o altro) fossero rimaste invariate. In tali condizioni la produzione media dell'allevamento, che nel 1946 era stata di gr. 324,1, nel 1947 sarebbe dovuta essere di (324,1 + 34,9 =) gr. 359,0, nel 1948 di (324,1 + 69,8 =) gr. 399,9 e infine nel 1949 di (324,1 + 104,7 =) gr. 428,8 di fiocco. Se, a questo punto, avessimo dovuto manifestare un'opinione, ci saremmo espressi nel senso che la produzione media effettiva nell'allevamento, e negli anni considerati, doveva essere stata inferiore ai valori ora detti, e ciò per diversi motivi, ma principalmente: perchè gli animali riproduttori non

vengono scelti in base all'unico criterio della produzione ponderale, ma di fatto occorre tenere conto di altri elementi, come la qualità del fiocco, la conformazione, la fecondità e il comportamento sessuale, l'apparenza estetica, e via dicendo; perchè le generazioni non si sostituiscono nettamente ma in parte si sovrappongono; ma soprattutto perchè la quota di rimonta è stata dell'ordine di grandezza di quella stimata soltanto relativamente al 1946, mentre nei due anni successivi la consistenza dell'allevamento è più che raddoppiata (passando da circa 2000 ad oltre 4000 capi), il che significa che la quota di rimonta non può essere rimasta, come nel 1946, sulla aliquota annuale corrispondente al 25 per cento delle femmine e al 2 per cento dei maschi per generazione, ma di fatto deve essere stata sensibilmente superiore, ciò che ha abbassato il differenziale selettivo. È anche vero che, a partire dal 1947, sono stati ammessi alla riproduzione anche animali giovani, appartenenti cioè alla generazione successiva rispetto a quella considerata nella stima, ma il contributo di questi ultimi, pure ammettendo che la valutazione delle loro capacità produttive, eseguita in una età molto giovanile, fosse obbiettiva, non può essere stata tale da annullare l'azione deprimente dovuta all'aumento nella quota di rimonta. Di fatto, la produzione media dell'allevamento per capo è passata da gr. 324,1 nel 1946 a gr. 360,1 (contro gr. 359,0 stimati) nel 1947, a gr. 383,1 (contro gr. 399,9 stimati) nel 1948 e infine a gr. 398,0 (contro gr. 428,8 stimati) nel 1949 *. In sostanza, la produzione media effettiva ha coinciso pressochè esattamente con la stima teorica nel 1947, in coincidenza cioè del periodo (1946) in cui la quota di rimonta è da ritenere sia stata prossima a quella spettantele in base al computo precedente, ed è stata successivamente inferiore, ciò che trova, a nostro parere, una ovvia e plausibile spiegazione nel forte aumento nella quota di rimonta verificatosi nei due anni successivi al 1946. In definitiva, e malgrado le semplificazioni e le approssimazioni che un computo del genere di quello che è stato eseguito inevitabilmente comporta, sembra che il valore dell'ereditabilità stimata in base alle medie di vita sia risultato sufficientemente obbiettivo e degno di fiducia, ed abbia concordato apprezzabilmente bene, tenuto conto delle variazioni nella quota di rimonta, coi risultati reali conseguiti nell'allevamento in tre anni di selezione prevalentemente massale.

---

* Le produzioni medie per capo/anno relative agli anni 1946, 1947, 1948 e 1949 sono state tolte (col permesso degli allevatori) dalle relazioni annuali preparate annualmente dall'A., allora consulente tecnico dell'Allevamento Fontenuova, per i signori dott. C. Ragionieri e G. Paoletti, direttori e comproprietari dello stesso allevamento e sono state computate in base ai dati dei controlli funzionali forniti dai medesimi. In parte esse sono già state pubblicate (Bettini, 1948-*b*).

Discussione dei risultati

La stima dell'ereditabilità della produzione ponderale del fiocco Angora, che abbiamo calcolato partendo dalle medie di vita, ha un valore molto elevato, uno dei maggiori a nostra conoscenza *. Essa è peraltro anche una delle poche, se non l'unica, a tutt'oggi e per quanto ne sappiamo, che è stata ottenuta utilizzando questo criterio. Un valore così elevato si può spiegare anzitutto ammettendo che l'eredità della produzione del fiocco Angora sia totalmente o prevalentemente additiva. (Incidentalmente, il piano di riproduzione usato nell'allevamento è consistente, fino al 1948 compreso **, in una selezione di massa — salvo un uso moderato delle genealogie — si è dimostrato sano. Esso — notiamo — è stato applicato empiricamente, in quanto non era noto, nè alcuno poteva prevedere all'inizio, quale fosse il tipo di eredità della produzione del fiocco Angora). Ma è da ritenere che vi abbiano contribuito altri elementi, e cioè: (*a*) i dati di produzione usati nella stima si riferiscono tutti ad un solo allevamento (condizione un poco eccezionale), il quale è, nel suo genere, uno fra i più progrediti dal punto di vista tecnico, e nel quale da parecchi anni non vengono introdotti riproduttori dal di fuori, per cui deve esistere un certo grado di consanguineità, anche se non elevato, ed una sia pure lontana ma comune parentela coi primi fondatori maschi dell'allevamento; (*b*) la composizione e il valore nutritivo della razione alimentare sono rimasti praticamente costanti nel tempo, e ciò, è da supporre, deve avere sensibilmente ridotto una delle più comuni e importanti cause di variazione ambientale, quella connessa con le variazioni, nel tempo, nella quantità e nella qualità degli alimenti; (*c*) la produzione individuale è stata valutata sulle medie di vita, e questo significa ancora se non annullare, certo attenuare molte differenze am-

---

* Molte stime di ereditabilità, aggiornate alla data della pubblicazione, sono state raccolte in « Breeding livestock adapted to unfavorable environments ». FAO Agr., Studies No. 1, Washington, 1948, studio preparato da Ralph W. Phillips.

** Successivamente i riproduttori migliori sono stati suddivisi in famiglie o meglio in gruppi di famiglie (e ciò per ridurre al minimo la consanguineità entro ogni gruppo), ciascuno dei quali fu destinato ad essere migliorato per uno scopo diverso: altissima produzione (oltre gr. 600 per capo/anno), tipo restiforme, tipo lanoso, alta fecondità, ed altri. Ogni famiglia fu composta inizialmente di 1 maschio e 6-10 femmine, ogni gruppo di 3-6 famiglie. I maschi appartenenti a una famiglia vengono usati anche nelle altre famiglie del gruppo, ma non negli altri gruppi. Essi, naturalmente, sono anche impiegati estensivamente fuori dai gruppi, a scopo di miglioramento e di compensazione, nel grosso della popolazione. Alcune famiglie furono costituite, a scopo sperimentale, già nel 1948, ma esse cominciarono a funzionare in pieno soltanto nel 1949. I criteri del miglioramento sono stati descritti più ampiamente in un'altra pubblicazione, cui si rimanda (Bettini, 1948-*b*).

bientali (e, non ultimi, gli errori sperimentali connessi con la tecnica, l'epoca di raccolta del fiocco, la personalità del raccoglitore, e via dicendo). È evidente che quanto più l'ambiente è reso uniforme, ossia quanto più si smorzano le differenze ambientali fra gli individui e quelle negli stessi individui nel tempo, tanto più si attenuano le differenze di produzione dovute a tali differenze e quindi tanto più si esaltano le differenze ereditarie. L'ereditabilità è infatti un rapporto, e si stima appunto come rapporto fra la varianza genica (nel nostro caso) e la varianza totale, ossia la varianza genica più quella ambientale — nel senso specificato precedentemente — più quella (eventuale) dovuta ad interazioni fra l'eredità e l'ambiente. Riducendo il valore della variazione ambientale, ossia riducendo il valore del denominatore della frazione, è ovvio che il valore del rapporto, cioè la stima dell'ereditabilità, aumenta. È interessante il fatto che nel nostro caso l'elemento apparentemente decisivo nel determinare un alto valore della stima sia stato il valutare la produzione individuale sulle medie di vita anzichè sopra un solo anno — sia pure stato esso sempre il medesimo — di produzione. A nostro parere, ciò sembra essere veramente degno di rilievo. Si potrebbe logicamente obbiettare che se la stima fosse stata eseguita sopra un numero di famiglie maggiore, questa avrebbe potuto forse dare un valore significativo anche se calcolata in base ad un solo anno di produzione. È possibile. Ma, anche volendo ammettere valida l'ipotesi, essa non toglierebbe nulla al fatto che (*a*) la stima eseguita nelle stesse famiglie sulle medie di vita, anzichè su un solo anno di produzione, è risultata di valore elevato, significativa e, a nostro parere, in buona armonia coi risultati concreti conseguiti nell'allevamento, (*b*) nella realtà operante dei nostri allevamenti come nel, modesto od organizzato su larga scala che esso sia, lavoro di miglioramento delle nostre razze, dobbiamo valutare anzitutto singoli individui, e non necessariamente trarre elementi di giudizio da medie ottenute su grandi numeri, le quali hanno uno scarso valore di previsione rispetto ai singoli individui. In sostanza, ci sembra che i risultati che si perseguono saranno, a parità di condizioni, tanto più concreti, quanto più la valutazione individuale sarà stata obbiettiva nel rispecchiare il reale valore fenotipico degli animali impiegati. Con questo non si intende affatto di sostenere che non esistono differenze fra il valore fenotipico e quello genotipico di un animale, nè che esse sono necessariamente e in ogni caso sempre modeste. Si vuole soltanto affermare che, sempre a parità di altre condizioni, tali differenze risulteranno tanto più distorte e lontane dal reale quanto più grandi saranno stati gli errori di valutazione del valore fenotipico, il quale è l'unico che può essere stimato direttamente. Nel nostro caso particolare, sembra che i fatti

abbiano dimostrato come la stima dell'ereditabilità basata sulla produzione di un solo anno, a parte il suo valore assoluto, fosse inesatta, e ciò non è spiegabile altro che ammettendo che la produzione di un solo anno non rappresenta in generale il vero valore fenotipico individuale. Al contrario, la stima è apparsa a nostro avviso attendibile e accettabile se basata sulle medie di vita. Vorremmo concludere col dire una cosa anche troppo ovvia, e cioè che l'elemento pregiudiziale, che è alla base di ogni progresso del miglioramento, riposa anzitutto sulla buona valutazione del valore fenotipico dei singoli individui (i quali sono grandezze a quattro dimensioni, poichè durano nel tempo, e perciò, se si vuole una buona stima di qualche loro caratteristica, occorre tenere il dovuto conto anche della quarta dimensione — il tempo — ripetendo il più possibile le osservazioni su ciascuno di essi), per quanto raffinati, elaborati e complessi possano essere i criteri applicati nel miglioramento. Ciò, è chiaro, non toglie nulla al valore di questi ultimi, valore che però resta subordinato al modo col quale la valutazione individuale viene eseguita. I criteri del miglioramento sono infatti mezzi tecnici, e come tali indifferenti e rispetto ai termini del problema e agli scopi da raggiungere, pure essendo indispensabili sia per indagare sui primi che per conseguire i secondi. Essi presentano una certa analogia con le operazioni matematiche da usare per risolvere un determinato problema, le quali sono bensì indifferenti sia rispetto alle premesse che ai risultati, ma ciò non di meno l'esattezza della soluzione è condizionata all'esattezza dell'impostazione del problema stesso e della esecuzione delle operazioni richieste.

RIASSUNTO

La ripetibilità della produzione del fiocco nel coniglio Angora, studiata sui dati di controllo di tre anni consecutivi, è apparsa un attributo solo moderatamente costante (secondo anno col terzo, $r = 0{,}41$, secondo anno col quarto, $r = 0{,}49$, terzo anno col quarto, $r = 0{,}56$, secondo anno col terzo e col quarto, $R = 0{,}63$).

È stata eseguita una stima della ereditabilità delle variazioni nella produzione del fiocco (*a*) in base alla produzione di un solo anno di vita (il secondo), e (*b*) in base alle medie di vita (le produzioni medie annuali computate sulle produzioni di due-tre anni consecutivi).

La regressione entro le famiglie dei riproduttori maschi delle figlie sulle madri è stata nel primo caso pressochè nulla e non significativa, nel secondo 0,375 e significativa. L'ereditabilità, stimata sulle medie di vita,

è stata 0,75. Questa stima è risultata in buon accordo coi risultati ottenuti in tre anni di selezione prevalentemente massale.

È stata sottolineata l'importanza di valutare il valore fenotipico dei caratteri di interesse economico sulle medie di vita anzichè sui risultati di un solo anno di controllo.

SUMMARY

HERITABILITY OF WOOL IN ANGORA RABBITS

by Tito Manlio Bettini

The repeatability of wool yield as shown by the records of three consecutive years appeared to be only a moderately constant attribute of Angora rabbits (2nd yr. with 3rd yr., $r = .41$; 2nd yr. with 4th yr., $r = .49$; 3rd yr. with 4th yr., $r = .56$; 2nd yr. with 3rd yr., $R = .63$).

An estimate has been made of the heritability of variations in the wool yield (*i*) on the basis of one year records (the second year of life) and (*ii*) on the basis of lifetime averages (the annual averages of two-three consecutive year).

The intra-sire regression of daughters' yields on dam's yields was close to zero and not significant when estimated according to one year records, while it was .375 and significant when estimated according to lifetime averages. The heritability, in the latter case, was 0.75. Such an estimate agreed well with the results obtained in three years of mass selection.

The importance has been emphasized of evaluating the phenotypic value of an economically interesting characteristic according to lifetime averages rather than one year records.

LAVORI CITATI

Bettini, T. M. L'Angora italiana bianca. *L'Italia Agr., 83,* 1946.

Bettini, T. M. Le orecchie lanose nel coniglio Angora. *L'Italia Agr., 84,* 1947.

Bettini, T. M. La lana Angora: sue caratteristiche e sua produzione. *L'Allevatore,* 1948-*a*.

Bettini, T. M. Il Centro di allevamento Fontenuova. *L'Allevatore,* 1948-*b*.

Bettini, T. M. Contributo alla conoscenza della lana Angora. *Atti Conv. Avicunicolo Naz.*, Verona, 1948, 1949-*a*.

Bettini, T. M. Il miglioramento degli animali. *L'Eco Mont.*, 1949-*b*.

Bettini, T. M. La lunghezza delle fibre Angora in rapporto alla produzione annuale del fiocco. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., III, 1949-*c*.

Bettini, T. M. L'accrescimento della lana nel coniglio Angora. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., III, 1949-*d*.

Bettini, T. M. La ripresa del fiocco Angora. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., IV, 1950-*a*.

Bettini, T. M. Contributo alla conoscenza dei fiocchi Angora d'Italia. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., IV, 1950-*b*.

Bettini, T. M. Ricerche preliminari sulla resistenza termica della lana Angora. *La Ricerca Scient., 20,* 1950-*c*.

Bettini, T. M. Ricerche sull'igroscopicità del fiocco Angora. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., IV, 1950-*d*.

Bettini, T. M. Elementi di Zoognostica. Torino, Soc. Editr. Intern., 1950-*e*.

Bettini, T. M. Ricerche sulla resistenza elettrica della lana Angora. *Ann. Sperim. Agr.*, n. s., V, 1951-*a*.

Bettini, T. M. L'ereditabilità. *Riv. Zoot., 24,* 1951-*b*.

Briquet, R., Jr., and Lush, J. L. Heritability of amount of spotting in Holstein-Friesian cattle. *Jl. Heredity, 38,* 1947.

Johnson, L. E., and Lush, J. L. Repeatability of type ratings in dairy cattle. *Jl. Dairy Science, 25,* 1942.

Lush, J. L. Intra-sire correlation or regression for offsprings on dam as a method of estimating heritability of characteristics. *33rd Proc. Amer. Soc. Anim. Production,* 1940.

Lush, J. L. Animal breeding plans. Iowa, Iowa State College Press, 1947.

Ricevuto l'11 settembre 1951.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi e Silvio Fortini

INTENSITÀ FOTOSINTETICA E RESPIRATORIA, GLUTATIONE RIDOTTO, ACIDO ASCORBICO E ATTIVITÀ CATALASICA IN FUNZIONE DEL REGIME IDRICO

Fra le piante che sono state oggetto di ricerca sistematica nel 1950 (*Arachis hypogaea, Vicia faba, Nicotiana tabacum* e *Beta vulgaris*) abbiamo voluto includere anche il *Pelargonium zonale,* non solo per osservare il comportamento degli enzimi e dei mesocatalizzatori di ossido-riduzione in studio in una specie diversa, ma anche perchè, stando alle prove di B. S. Meyer e S. Rader (1), ideatori dell'apparecchio per la misura della fotosintesi e della respirazione su foglie recise, da noi adottato nelle ricerche compiute nel 1949 (2), questa pianta si presta in modo particolare per tali determinazioni. Speravamo così di non incontrare le difficoltà riscontrate per la *Vitis vinifera* e soprattutto di chiarire i rapporti eventualmente esistenti tra fotosintesi e attività catalasica.

Abbiamo eseguito quest'anno le misure della fotosintesi su foglie recise per il fatto che il lavoro viene grandemente semplificato e perchè, come è stato dimostrato negli anni precedenti, i risultati concordano, per alcuni tipi di piante (2) (3), con quelli ottenuti lavorando su foglie attaccate alla pianta.

Tecnica seguìta

I metodi e gli apparecchi usati per la determinazione dell'attività fotosintetica e respiratoria sono stati ampiamente descritti in altri lavori ai quali rimandiamo il lettore (2). Così per la determinazione dell'attività catalasica. Per il glutatione abbiamo seguito il metodo di Binet e Weller opportunamente modificato per i tessuti vegetali, mentre per l'acido ascorbico ci siamo valsi del metodo che impiega come reattivo il 2-6 diclorofenolindofenolo. I valori da noi ottenuti sono in generale superiori a quelli riportati nella letteratura; però anche altri autori lavorando con lo stesso metodo hanno ottenuto valori simili ai nostri.

Questi metodi sono descritti particolareggiatamente nel lavoro riguardante il tabacco (4). Sia per il glutatione che per l'acido ascorbico ci siamo dovuti limitare alla determinazione delle forme ridotte a causa della costante presenza dei nitrati nei tessuti in esame.

Per la determinazione del consumo idrico fu usato il metodo gravimetrico, perchè — dato il tipo di pianta studiata — ritenemmo opportuno effettuare la coltivazione in vaso Mitscherlich. I vasi Mitscherlich, che ricevevano tutta l'acqua richiesta dalla pianta, venivano pesati giornalmente e riportati al peso iniziale con aggiunta di acqua mentre i vasi della serie a regime idrico ridotto venivano riforniti con il 50 % dell'acqua richiesta. A lato delle due serie suddette si tenevano altri vasi senza alcuna coltura ma con lo stesso tipo di suolo, di medio impasto ricco di *humus*, altamente provvisto di P_2O_5 e di K_2O assimilabile, onde determinare l'acqua che per effetto dell'evaporazione perdeva il suolo stesso. Con semplici calcoli si risaliva al fabbisogno idrico della pianta. Il regime idrico ridotto fu stabilito 3 mesi prima di eseguire le prove onde esser certi dell'adattamento dei soggetti.

Parte sperimentale

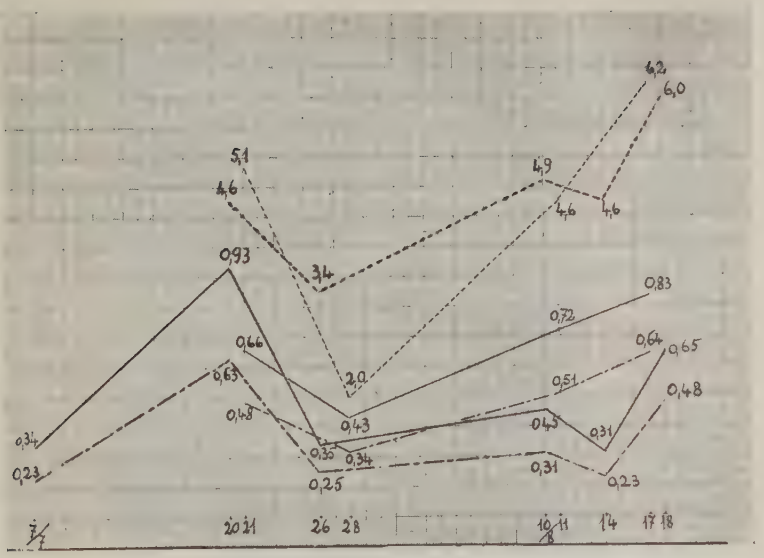
Esaminando il grafico I, dove sono riportati i risultati delle misure, eseguite contemporaneamente, della fotosintesi e dell'attività catalasica appare in modo chiaro la stretta relazione esistente fra queste due funzioni.

Uno di noi (2), basandosi sulla relazione di proporzionalità diretta riscontrata fra attività fotosintetica e respiratoria e fra quest'ultima e l'attività catalasica, aveva espresso l'opinione che anche fra catalasi e fotosintesi dovesse esservi un rapporto ben definito. Alcuni autori, fra i quali Warburg, Kohn e Yabusol (2), indagarono l'effetto di inibitori e della temperatura sull'attività fotosintetica e catalasica e trovarono che la prima è influenzata quasi nello stesso grado della seconda.

Nakamura osservò che l'idrossilammina, ritenuta inibitore specifico della catalasi, rallentava anche la funzione clorofilliana e ne deduceva che la scissione di H_2O_2 era la reazione oscura limitante la velocità della fotosintesi.

A parte questa conclusione oggi discutibile, noi abbiamo voluto mettere in evidenza una relazione fotosintesi-attività catalasica facendo però variare queste due grandezze servendoci di un mezzo fisiologico: la quantità di acqua messa a disposizione della pianta. Non si tratta dunque di osservazioni fondate sull'azione discutibilmente specifica d'un inibitore (ad esempio, l'idrossilammina può agire, oltre che sulla catalasi, anche su

GRAFICO I



Fotosintesi e catalasi (geranio)

mgr. di CO_2 assimilata per ora e per gr. di sostanza fresca, regime idrico normale

mgr. di CO_2 assimilata per ora e per gr. di sostanza fresca, regime idrico ridotto

mgr. di O_2 emessi per ora e per gr. di sostanza fresca, regime idrico normale

mgr. di O_2 emessi per ora e per gr. di sostanza fresca, regime idrico ridotto

catalasi, regime idrico normale

catalasi, regime idrico ridotto

altri catalizzatori con gruppo prostetico eminico) o di osservazioni basate su analisi di temperatura che, se possono dare buoni risultati in sistemi inorganici, sono da usare con grande circospezione nel caso di sistemi biologici, nei quali le reazioni sono strettamente dipendenti dalle strutture protoplasmatiche, ma di valori ottenuti in condizioni che escludono interventi drastici esterni.

I dati ottenuti sulla fotosintesi (tabella I) confermano ancora una volta il fenomeno osservato in precedenti lavori, e cioè che la fotosintesi unitaria è maggiore nelle piante coltivate con dosi idriche ridotte. Così nel corso delle ricerche iniziate alcuni anni or sono, intese a studiare il metabolismo dei vegetali posti in condizioni di aridità, prendendo in considerazione anche l'intensità traspiratoria, fu messo in evidenza che le

piante allorchè venivano coltivate fin dall'inizio con dosi ridotte di acqua aumentavano relativamente l'intensità delle tre funzioni fondamentali, e cioè la respirazione, la fotosintesi e la traspirazione. Questi risultati, che noi giudicammo di notevole portata teorica, erano in contrasto con quanto fu riscontrato da altri ricercatori (Iljin, 1923; Duster, 1924; Desai, 1933, ecc.) onde ritenemmo necessario ripetere gli studî in proposito corredandoli con le attività enzimatiche che più interessano i processi di ossidoriduzione e con il contenuto in acido ascorbico e glutatione dei tessuti individuando in questi enzimi e mesocatalizzatori i fattori determinanti l'esaltazione del metabolismo in funzione delle disponibilità idriche del suolo.

Teniamo a mettere in evidenza che i risultati da noi trovati si accordano con quelli di Van der Paauw (5) e di A. Panella (6). In particolare il primo sperimentando su avena trovò che la traspirazione di un raccolto cresciuto fin dal principio su suolo secco eccede a parità di condizioni quella di un raccolto allevato sul suolo umido. Anche per quel che riguarda la sola fotosintesi i risultati di questo autore sono simili ai nostri. Egli infatti potè stabilire che la produzione di sostanza organica di piante sul suolo secco è maggiore talvolta anche in senso assoluto.

Analogamente a quanto avviene per la fotosintesi, anche l'intensità respiratoria (grafici II-III e tabelle II-III) è maggiore nelle piante allevate con dosi di acqua limitate per il 50 %. Questo risulta però soltanto nelle determinazioni eseguite nel pomeriggio probabilmente perchè con l'aumento di temperatura la pianta avverte maggiormente le deficenze idriche.

Tenendo presente i grafici IV, V, VI e VII e le tabelle IV, V, VI e VII contenenti i valori, oltre che della catalasi, anche del glutatione ridotto e dell'acido ascorbico, questi ultimi due presenti in quantità nettamente superiori nelle piante rifornite con dosi idriche normali, si può chiarire almeno nei punti essenziali il metabolismo delle piante a diverso regime idrico onde tentare una spiegazione dei fenomeni osservati e di conseguenza una logica interpretazione di essi.

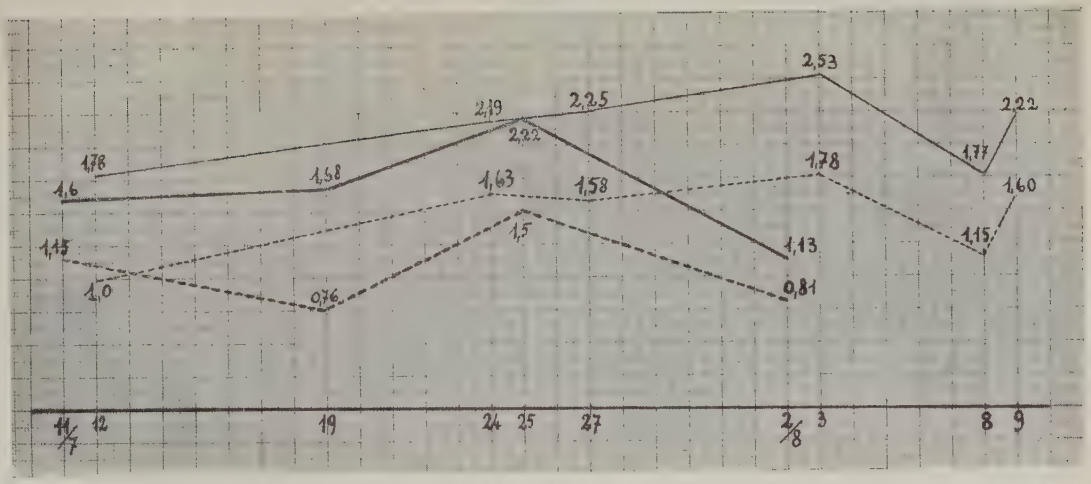
Dall'esame della tabella VIII si ricava che nelle piante a regime ridotto prevalgono gli enzimi ad azione ossidante, ossidasi, con conseguente positivizzazione del potenziale di ossido-riduzione quindi spostamento degli equilibri:

$$\text{acido deidroscorbico} \rightleftarrows \text{acido ascorbico}$$

$$\text{glutatione ossidato} \rightleftarrows \text{glutatione ridotto}$$

verso la forma ossidata.

Grafico II



Respirazione del geranio (mattino)

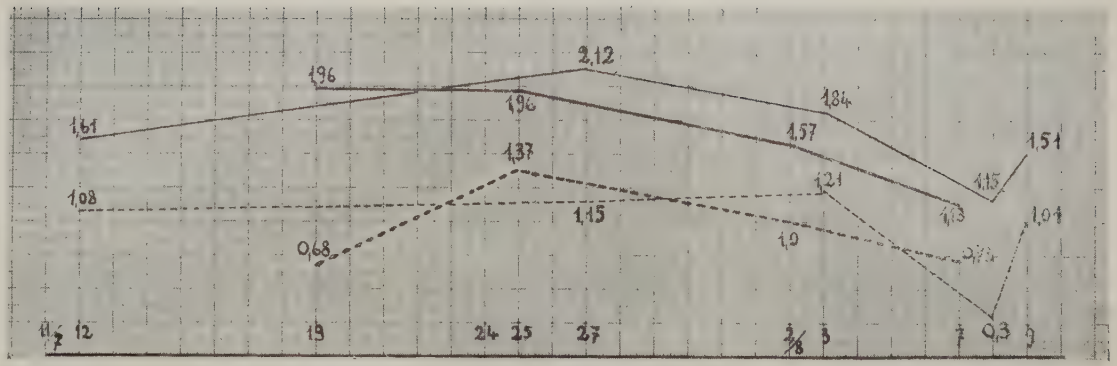
——— regime idrico ridotto mgr. di CO_2 emessa per ora e per gr. di sostanza fresca

——— regime idrico normale mgr. di CO_2 emessa per ora e per gr. di sostanza fresca

– – – – – – regime idrico ridotto mgr. di O_2 assorbito per ora e per gr. di sostanza fresca

- - - - - - regime idrico normale mgr. di O_2 assorbito per ora e per gr. di sostanza fresca

Grafico III



Respirazione del geranio (pomeriggio)

——— regime idrico ridotto mgr. di CO_2 emessa per ora e per gr. di sostanza fresca
——— regime idrico normale mgr. di CO_2 emessa per ora e per gr. di sostanza fresca
- - - - - - - regime idrico ridotto mgr. di O_2 assorbito per ora e per gr. di sostanza fresca
– – – – – regime idrico normale mgr. di O_2 assorbito per ora e per gr. di sostanza fresca

Geranio: fotosintesi (durata dell'esperienza: ore 8)

Tabella I

Regime idrico ridotto 50 %							Regime idrico normale						
Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_p	mgr. CO_2 assimilata per h. e gr. sost. fresca	mgr. O_2 sost. fresca	Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_p	mgr. CO_2 assimilato per h. e gr. sost. fresca	mgr. O_2 emesso per h. e gr. sost. fresca
21–VII	1,41	3,8	3,8	1	0,66	0,48	7–VII	1,71	2,4	2,25	0,93	0,34	0,23
28–VII	1,80	3,2	3,2	1	0,43	0,32	20–VII	1,45	5,5	5,05	0,92	0,93	0,63
11–VIII	1,50	4,4	4,3	0,97	0,72	0,51	26–VII	1,41	2	2	1	0,35	0,25
17–VIII	1,80	6,15	6,4	1,04	0,83	0,64	10 VIII	1,95	3,55	3,35	0,94	0,45	0,31
				Medie . . .	0,66	0,485	14–VIII	1,40	1,80	1,80	1	0,31	0,23
							18–VIII	1,50	4	4	1	0,65	0,48
											Medie . . .	0,505	0,39

Geranio: respirazione (mattina)

Tabella II

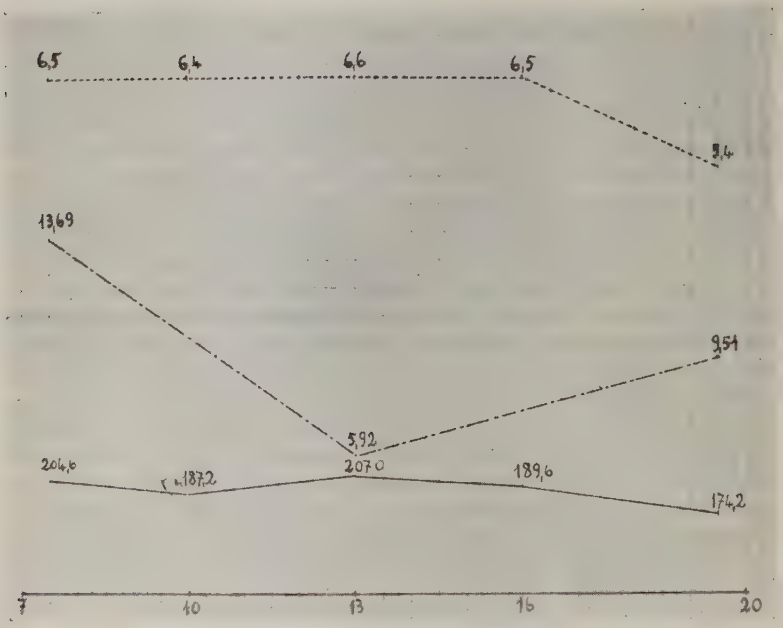
Regime Idrico Ridotto (R. I. R.)					Regime Idrico Normale (R. I. N.)					mgr. CO_2 per h. e per gr. sostanza fresca		mgr. O_2 per h. e per gr. sostanza fresca	
Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_r	Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_r	R. I. R.	R. I. N.	R. I. R	R. I. N.
12–VII	1,31	2,15	2	1,07	19–VII	1,55	3,10	1,50	2,06	1,61	1,95	1,08	0,68
27–VII	1,41	3,05	2,30	1,32	25 VII	1,55	3,10	3	1,03	2,12	1,96	1,15	1,37
3–VIII	1,83	3,45	3,15	1,09	2–VIII	1,77	2,85	2,50	1,14	1,84	1,57	1,21	1
8–VIII	2	2,35	0,85	2,76	7–VIII	1,55	1,8	1,60	1,12	1,15	1,13	0,30	0,73
9–VIII	1,75	2,75	2,50	1,08						1,51		1,01	
Medie . . .		2,74	2,16		Medie . . .		2,71	2,15		Medie . . .			
										1,65	1,65	0,95	0,94

Geranio: respirazione (pomeriggio)

Tabella III

Regime Idrico Ridotto (R. I. R.)					Regime Idrico Normale (R. I. N.)					mgr. CO_2 per h. e per gr. sostanza fresca		mgr. O_2 per h. e per gr. sostanza fresca	
Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_r	Data	Peso fresco	cc. CO_2	cc. O_2	Q_r	R. I. R.	R. I. N.	R. I. R.	R. I. N.
12–VII	1,21	2,2	1,7	1,29	11–VII	1,65	2,7	2,7	1	1,78	1,60	1	1,15
24–VII	1,56	3,5	3,6	0,97	19 VII	1,77	3,95	1,9	1,60	2,19	1,68	1,63	0,76
27–VII	1,41	3,25	3,2	1,00	25–VII	1,67	3,8	3,55	1,07	2,25	2,22	1,58	1,50
3–VIII	1,47	3,8	3,7	1,02	2–VIII	2,16	2,5	2,5	1	2,53	1,13	1,78	0,81
8–VIII	1,6	2,9	2,6	1,11						1,77		1,15	
9–VIII	1,3	2,95	2,95	1						2,22		1,60	
Medie . . .		3,1	2,95		Medie . . .		3,01	2,66					
										Medie . . .			
										2,12	1,65	1,45	1,05

Grafico IV



Regime idrico ridotto (geranio)

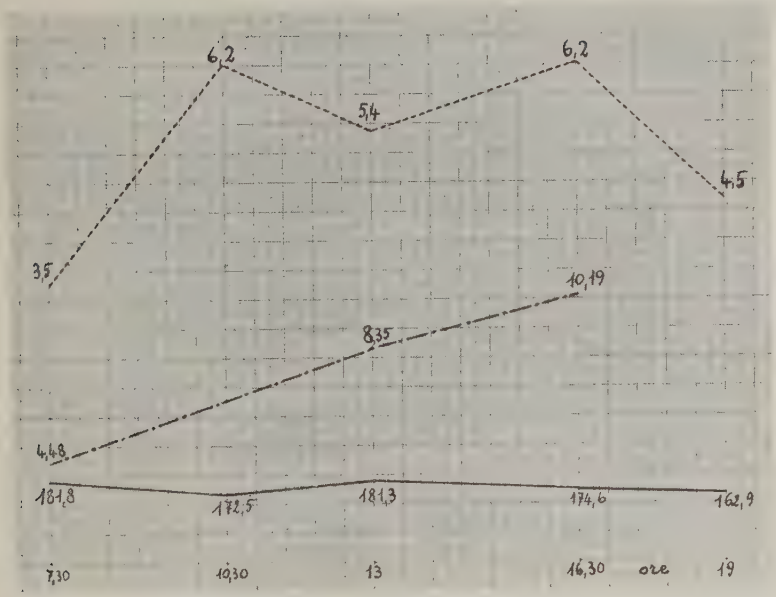
catalasi
glutatione
acido ascorbico

Quest'accumulo di enzimi ossidanti se, da un lato, ci spiega la maggiore intensità respiratoria comportante un accumulo di CO_2 in forma complessata nelle cellule, dall'altro lato rende conto della maggiore capacità a compiere fotosintesi in quanto, premesso che tale processo comporta una riduzione della CO_2, esso ha bisogno di accettare elettroni il cui trasporto potrebbe essere favorito dalle ossidasi.

Risultati nettissimi abbiamo ottenuti con lo studio compiuto sul tabacco (4). In questa pianta l'attività ossidasica della serie a regime idrico ridotto è di circa due volte maggiore di quella della corrispondente serie a regime idrico normale. Nella tabella che segue sono riferiti i risultati relativi all'attività ossidasica per alcune specie in rapporto al regime idrico *:

* Il lettore tenga presente che i dati soprindicati rappresentano la media di numerose determinazioni come risulta dai lavori citati.

Grafico V



Regime idrico normale (geranio)

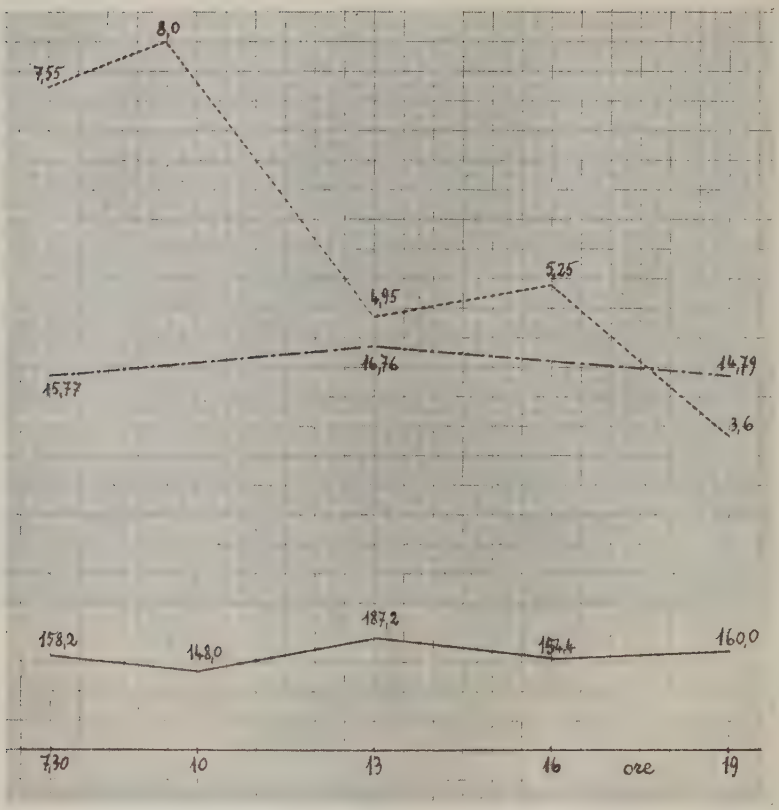
catalasi
glutatione
acido ascorbico

Tabella IV

Specie		Ossidasi in mm³ di O_2	
		Regime idrico ridotto	Regime idrico normale
Nicotiana tabacum var. « Virginia Bright » . .	mattino	997	440
Vicia faba	mattino	1596	1392
	pomeriggio	2033	1692
Arachis hypogaea . . .	mattino	1710	1437
	pomeriggio	1441	1350

Questi risultati, che integrano le ricerche iniziate da uno di noi nel 1947, intese a chiarire il metabolismo delle piante allevate in ambiente arido, ci portano anche ad interessanti rilievi circa le sintesi che avvengono nei vegetali a diverse somministrazioni idriche durante il loro ciclo vegetativo. Studiando la composizione chimica dei semi di alcune specie

GRAFICO VI

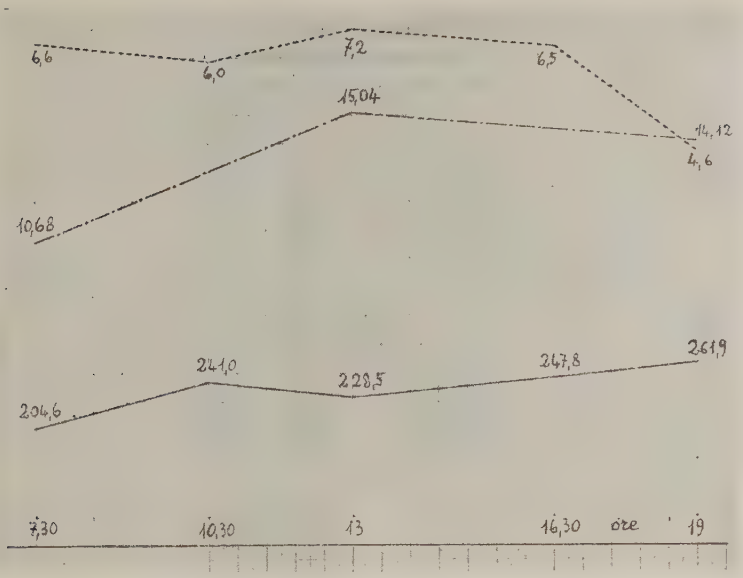


Regime idrico normale (geranio)

catalasi
glutatione
acido ascorbico

è stato possibile dimostrare che i lipidi aumentano considerevolmente con l'aumentare delle quantità d'acqua fornite alla cultura mentre il contenuto in glucidi (estrattivi inazotati) diminuisce con questo, ottenendo come risultato che i semi provenienti da soggetti tenuti a regime idrico ridotto presentano nei confronti degli altri un minor contenuto in grassi ed un maggior contenuto in zuccheri. Nella tabella XI riportiamo i valori delle analisi già rese note (7). In essa appare in modo evidente la proporzionalità inversa tra il contenuto in lipidi e glucidi dei semi, nonchè tra i primi e le proteine. Per inquadrare questi dati nel complesso metabolismo

Grafico VII



Regime idrico ridotto (geranio)

catalasi
glutatione
acido ascorbico

delle piante allevate in funzione delle disponibilità idriche del suolo è necessario tener presente i risultati raggiunti da noi in questo e nei precedenti anni.

Si constatò infatti che l'intensità respiratoria dei tessuti delle piante provenienti da ambiente arido era notevolmente superiore, parallelamente a quella fotosintetica, alle stesse attività delle piante a regime idrico normale. Successivamente fu dimostrato come le cariche enzimatiche a carattere ossidante (deidrasi ossitrope) si accumulavano in maggior copia nei tessuti allorchè diminuivano le dosi d'acqua poste a disposizione del vegetale. Il contrario accadeva, come è stato messo in evidenza, per i trasportatori acido ascorbico e glutatione.

Poichè, stante le ricerche effettuate, in condizioni di aridità la pianta è costretta a respirare più intensamente, per cause che non stiamo qui a ripetere, e possiede una maggiore attività ossidasica, si deve ammettere che, in queste condizioni, come sopra si è accennato, debbono prevalere le forme ossidate dell'acido ascorbico e del glutatione per cui il metabo-

Geranio: regime idrico normale

Tabella V

Data	Ore 8			Ore 10		Ore 13			Ore 15,30			Ore 18		
	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2
11–VII					6						7,7			
14–VII					5,85									
18–VII					6,2									
19–VII					5,85						6,08			
20–VII					4,6						4,2			
25–VII					4,05									
26–VII					3,4									
2–VIII					4,85						3,1			
7–VIII				141,9	5				191,3		6,75			
10–VIII	209,5			209,5	4,9	188,8			147,8	10,81	3,1	190,4		
14–VIII	214,6			200	4,6	192,9			248,5	13,9	6,1	214,6		
16–VIII	191			204	7,5	193,8			130,1	15,77	7,2	164,7		
18–VIII	204,6	10,68	6,6	241	6	228,5	15,04	7,2	247,8		6,5	261,9	14,12	4,6
28 VIII	158,2	15,77	7,55	148,1	8	187,2	16,76	4,95	154,4		5,25	160	14,79	3,6
Medie ...	195,58	13,22	7,07	190,75	5,48	198,24	15,90	6,07	186,65	14,93	5,59	198,3	14,45	4,1

Geranio: regime idrico ridotto

Tabella VI

Data	Ore 8			Ore 10		Ore 13			Ore 15,30			Ore 18		
	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2	mmgr ac. ascorb. per 100 gr sost. fresc.	mmgr glut. per 100 gr sost. fresc.	Catal. CCO_2
12–VII					4						6			
21–VII					5,1									
24–VII					4,5									
27–VII					3,45						2,35			
28–VII					2						4,2			
3–VIII					4,65									
8–VIII				136,6	3,4						5,25			
9–VIII				176	6,1				135,3		4,45			
11–VIII	155,4			165,4	4,6	139,6			141,9		8,35			
17–VIII	181,8	4,48	3,5	172,5	6,2	181,3	8,35	5,4	123,9	5,76	2,85	129		
29 VIII	204,6	13,69	6,5	187,2	6,4	207	5,92	6,6	174,6	10,19	6,2	162,9		4,5
									189,6		6,5	174,2	9,51	5,4
Medie ...	180,6	9,09	5	167,5	4,6	176	7,13	6	153,1	7,97	5,13	155,4	9,51	4,95

Tabella VII

Geranio: regime idrico normale (medie giornaliere)

Datà	mmgr acido ascorbico per 100 gr. sost. fresca	mmgr glutatione per 100 gr. sost. fresca	Catalasi in CC O_2
7–VIII	166,6		5,87
10–VIII	189,2		4
14–VIII	214,1		5,35
16–VIII	176,7		7,35
18–VIII	236,7	13,28	6,18
28–VIII	161,5	15,77	5,87
Medie . . .	190,8	14,52	5,77

Tabella VIII

Geranio: regime idrico ridotto (medie giornaliere)

Data	Ac. ascorbico	Glutatione	Catalasi
8–VIII	136		3,9
9–VIII	159		7,2
11–VIII	142,7		3,72
17–VIII	174,6	7,67	5,16
29–VIII	192,5	9,71	6,28
Medie . . .	161	8,69	5,25

Tabella IX

	Piante a regime idrico normale	Piante a regime idrico ridotto
Attività fotosintetica	minore	maggiore
» respiratoria	minore	maggiore
» ossidasica	minore	maggiore
Contenuto in glutatione ridotto . . .	maggiore	minore
Contenuto in acido ascorbico	maggiore	minore

Tabella X

Regimi idrici	39 %	59 %	78 %	100 %
Umidità %	6,03	5,74	5,28	5,59
Numero saponificazione	182,00	184,00	185,00	187,00
Proteine grezze %	32,35	32,89	32,71	29,87
Grassi grezzi %	41,68	42,02	43,70	49,80
Cellulosa (metodo Bellucci) % .	7,50	6,00	6,16	4,20
Ceneri %	3,1	2,83	2,95	3,07
Estrattivi inazotati %	9,34	10,52	9,20	7,47

lismo della pianta sarà indirizzato verso prodotti a basso livello di riduzione a scapito del contenuto di quelle sostanze che precedono i lipidi caratterizzate invece da un elevato livello di riduzione.

Questo modo di vedere mirante a stabilire che non si può avere accumulo di grassi o composti simili in cellule che presentano forte attività ossidasica, può essere convalidato da altre ricerche (8) concernenti il contenuto enzimatico di semi di *Arachis hypogaea* in via di maturazione, dalle quali risulta che con il procedere dell'accumulo dei grassi nei tessuti del seme le ossidasi tendono a diminuire fino ad annullarsi.

Abbiamo accennato sopra a sostanze che precederebbero i lipidi nella formazione di questi dagli zuccheri, in quanto estese ricerche starebbero a dimostrare che il gradiente in grassi esiste solo nell'ipocotile ma non nella parte di tessuti che è al disopra degli organi di riserva quali i cotiledoni.

Infine Rhine (9), studiando il gradiente in olio dei cotiledoni in germogliazione su cotone, girasole, lino, ecc., non trovò una differenza nel contenuto in grassi dalla regione di accumulo a quella di crescita facente parte del germoglio mentre la trovava sempre nell'altra direzione e precisamente in quella che va dai cotiledoni al colletto nella quale il grasso aumenta con l'avvicinarsi alla sommità dell'ipocotile. I seguenti risultati trovati dal Rhine stesso confermano le idee in proposito:

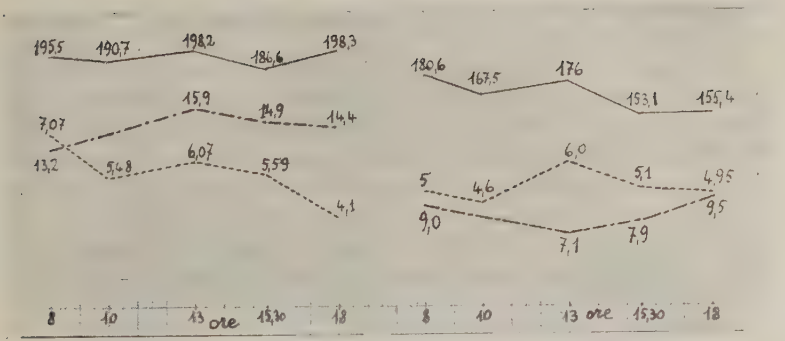
Pianta	Apice dei germogli	Parte mediana	Base
Cotone	5,75	2,24	1,33
Girasole	5,31	1,34	0,66

Il Rhine sulla scorta dei dati e di altre osservazioni esclude comunque il trasporto dei grassi come tali nelle cellule, perchè anche il movimento dei lipidi da lui riscontrato nell'ipocotile è poco probabile in quanto il loro movimento verso il basso, non può effettuarsi perchè la densità del citoplasma è maggiore di 1 mentre quella degli estratti è minore di 1.

È logico ammettere quindi, come per l'amido, che le sostanze in questione si trasformino in zuccheri per essere trasportati con l'intervento dei noti processi osmotici onde poi ricondensarsi in parte nei luoghi in cui necessitano come tali.

Nella tabella VIII non abbiamo incluso la catalasi, perchè per quanto riguarda il metabolismo di piante a regime idrico diverso nulla di defini-

GRAFICO VIII



Medie dell'intero ciclo vegetativo (geranio)

A sinistra: Regime idrico normale
A destra: Regime idrico ridotto
– – – – – – – catalasi
— · — · — glutatione
——————— acido ascorbico

tivo possiamo dire su questo enzima, malgrado le molte ricerche eseguite, che qui ricordiamo:

a) in *Solanum lycopersicum, Phaseolus vulgaris, Arachis hypogaea* e *Pelargonium zonale* non c'è differenza nel contenuto in catalasi tra le piante a regime idrico normale e ridotto (2);

b) in *Vicia faba* (2) è stato riscontrato un maggior contenuto in catalasi nelle piante a regime idrico normale;

c) in *Nicotiana tabacum* (4) e *Beta vulgaris* (foglie), e in *Triticum vulgare* (cariossidi) (10) sono le piante coltivate in carenza d'acqua che hanno un maggior contenuto di questo enzima. Per quanto riguarda le prime due piante crediamo opportuno segnalare che le differenze sono notevoli: ad esempio nel caso di *B. vulgaris* i soggetti carenzati d'acqua presentano un contenuto circa doppio degli altri.

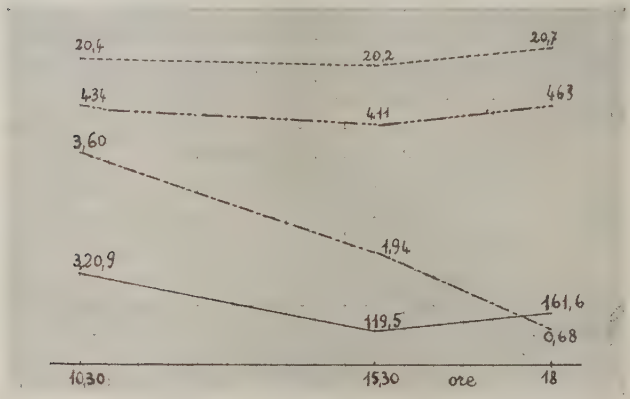
Dai grafici IV, V, VI e VII si rileva inoltre una proporzionalità inversa tra acido ascorbico e contenuto in catalasi che, secondo B. Chance, si può interpretare ammettendo una lenta formazione di H_2O_2 e bassa concentrazione di questo perossido nei tessuti, per modo che il complesso primario attivo fra catalasi e H_2O_2 venga convertito nel complesso secondario inattivo prima di reagire con altra H_2O_2 e svolgere O_2.

A proposito di questa relazione catalasi-acido ascorbico dalle medie dei valori ottenuti nelle stesse ore ma in giorni diversi, riportate nelle tabelle IV e V e nel grafico VIII, si osserva invece una proporzionalità

diretta in contraddizione con quanto appare chiaramente dai grafici IV, V, VI e VII già citati.

Tale contraddizione, osservata per altro in linea generale, anche con i valori ottenuti lavorando su *Arachis*, come si vede dal grafico IX, non infirma le deduzioni da noi tratte dall'andamento delle due funzioni suddette durante il giorno in quanto, a nostro avviso, le variazioni osservate

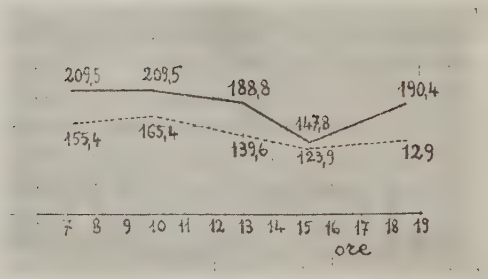
Grafico IX



Medie dell'intero ciclo vegetativo (*Arachis hypogaea*)

catalasi
ossidasi
glutatione
acido ascorbico

Grafico X



Mgr. acido ascorbico (geranio)

regime idrico normale
regime idrico ridotto

di ora in ora sono dovute alle proprietà chimiche delle due sostanze, mentre l'andamento dedotto dalle medie dei valori di tutto il ciclo vegetativo è imputabile ai diversi stadi fisiologici del vegetale.

Nel grafico X, che rappresenta le variazioni dell'acido ascorbico durante il giorno, si nota costantemente un massimo di questo acido nelle prime ore del mattino, un leggero aumento alle ore 10, poi una tendenza a diminuire con un minimo alle ore 15,30 e una risalita alle ore 18.

Per il glutatione non ci è stato possibile riscontrare regolarità alcuna.

Un fatto singolare da segnalare è che nel geranio non si è potuto porre in evidenza alcuna attività ossidasica nelle foglie per lo meno nei giorni in cui abbiamo eseguito le prove.

RIASSUNTO

È stata studiata l'attività fotosintetica, respiratoria, catalasica e le variazioni in acido ascorbico ed in glutatione ridotto nelle foglie di *Pelargonium zonale,* in funzione delle disponibilità idriche del suolo.

Viene confermata la maggiore attività fotosintetica e respiratoria nelle piante allevate fin dall'inizio con dosi ridotte di acqua.

È stata messa in evidenza una possibile relazione fra fotosintesi e catalasi nelle due serie di piante, tenendo in dovuta considerazione il periodo del ciclo vegetativo durante il quale si sono eseguite le determinazioni.

Con la scorta dei risultati ottenuti in altre ricerche si può ritenere acquisito che le piante tenute in carenza d'acqua presentano una maggiore attività ossidasica e un minor contenuto in acido ascorbico e in glutatione ridotto. Nei tessuti di dette piante si deve quindi avere un più alto potenziale di ossido-riduzione.

Tali fatti, che spiegano l'esaltazione delle fondamentali funzioni dei vegetali allorchè vengono a trovarsi in ambiente arido, secondo gli autori rendono conto del minor contenuto in composti ad alto livello di riduzione (lipidi) accumulati nei tessuti di riserva dei semi prodotti da piante carenzate d'acqua; in tali tessuti parallelamente i glucidi, composti a più basso livello di riduzione, aumentano.

Il contenuto in catalasi è inversamente proporzionale a quello dell'acido ascorbico.

Si mette in evidenza la necessità di eseguire contemporaneamente le determinazioni dei metaboliti e degli enzimi studiati, poichè è stata dimostrata la variabilità di tali composti in funzione delle ore del giorno.

SUMMARY

PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY, RESPIRATORY INTENSITY, REDUCED GLUTATHIONE, ASCORBIC ACID AND CATALASE ACTIVITY IN FUNCTION OF SOIL WATER SUPPLY

by Luciano Tombesi and Silvio Fortini

The object of this paper is the photosynthetic, respiratory and catalase activities and the variations in the ascorbic acid and reduced glutathione contents in *Pelargonium zonale* leaves in relation to soil water supply.

A greater photosynthetic and respiratory activity was once more observed for plants grown, from the initial stage, in reduced water supply.

There is emphasized a possible correlation between photosynthesis and catalase activity in plants grown with different water supplies, taking into consideration the period of the biological cycle of the plant, during which the determinations were made.

Through the results obtained in the course of these and other researches it has been possible to ascertain that plants grown in water deficiency possess a greater oxidase activity and smaller ascorbic acid and reduced glutathione content. In the tissues of such plants is then to be expected a greater red. ox. potential.

Such results explaining the exaltation of essential functions in plants grown in dry soil, in the authors' opinion, give a reason for the presence in the same plants of the smaller content of high reduced compounds (as lipids) in seed tissues; simultaneously in these tissues glucids (smaller reducing degree compound) are increasing.

The catalase content varies in indirect proportion with the ascorbic acid content.

The necessity of performing at the same time determinations of the observed metabolits and enzymes is emphasised, because such compounds vary according to the time of day.

NOTE BIBLIOGRAFICHE

(1) Meyer, B. S., and Rader, S. *Plant Physiology,* 1936, II, p. 437.

(2) Tombesi, L. Fotosintesi, quoziente respiratorio, traspirazione, attività catalasica ed ossidasica di alcune specie vegetali in rapporto alle disponibilità idriche del suolo. Nota I e II. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV, num. 4.

(3) Tombesi, L. Fotosintesi, respirazione e traspirazione in funzione del regime idrico. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1949, n. s., vol. III, num. 4.

(4) Tombesi, L. Contenuto in glutatione e acido ascorbico ed attività ossidasica e catalasica in funzione delle disponibilità idriche del suolo su foglie di *Nicotiana tabacum* var. « Virginia Bright » durante il ciclo vegetativo e la cura. *Il Tabacco,* 1951, n. 618.

(5) Van der Paauw, F. *Plant and Soil,* 1949, 1, p. 303.

(6) Panella, A. Consumi idrici e metabolismo sulla barbabietola da zucchero. *L'Industria Saccarifera Italiana,* 1950, anno XLIII, 1-2.

(7) Tombesi, L., e Tarantola, M. La composizione dei semi di alcune specie vegetali in relazione alle disponibilità idriche del suolo. Nota II. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV, num. 5.

(8) Fortini, S. e Venezian, M. E. Studio su alcuni sistemi enzimatici dell'*Arachis hypogaea. Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV, num. 5.

(9) Rhine (riferito da E. C. Miller, in *Plant Physiology,* 1931, p. 714).

(10) Fortini, S. Catalasi nelle cariossidi di grano in maturazione a regime idrico diverso. *La Ricerca Scientifica,* 1950, nn. 8-9.

Ricevuto il 24 settembre 1951.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi e Maria Elisa Venezian

ATTIVITÀ OSSIDASICA, CATALASICA E CARBOANIDRASICA E CONTENUTO IN GLUTATIONE OSSIDATO/RIDOTTO IN RELAZIONE ALLA SIMBIOSI BATTERICA DELLE LEGUMINOSE

Nota II

Premessa

Malgrado la considerevole mole di ricerche compiute e l'ingente massa di dati e di risultati ottenuti al fine di chiarire il metabolismo dell'azoto nel suolo, esistono ancora moltissimi fenomeni, fondamentali ai fini della fissazione simbiotica di questo elemento, che attendono di essere chiariti e vagliati alla luce delle moderne ricerche.

In questa Nota esporremo gli studi da noi compiuti al fine di mostrare i rapporti esistenti tra le attività catalasica, ossidasica, carboanidrasica ed il glutatione ridotto ed ossidato in funzione della simbiosi batterica sia nei tessuti fogliari che nei tubercoli radicali di *Vicia faba* correlati alla presenza dell'emoglobina.

Tecnica seguìta

Per i metodi di determinazione gasvolumetrica delle attività catalasica ed ossidasica adottati nel corso delle presenti ricerche, si rimanda ai lavori precedenti (6) come pure per il metodo di analisi del glutatione ridotto ed ossidato (7).

Per quanto concerne la misura dell'attività dell'anidrasi carbonica è stato adottato il metodo di Brinkman-Margaria-Roughton. Data la delicatezza di questa determinazione, varie sono le precauzioni da prendere: i recipienti debbono essere accuratamente puliti con acido cromico prima e con acqua distillata poi, seccati e conservati in atmosfera priva di polvere. La velocità di scuotimento dell'apparecchio va rigorosamente controllata; è necessario lavorare con una concentrazione ottimale del tampone per ovviare ad una sua eventuale azione attivatrice o inibitrice della reazione: tale *optimum* si trova provando le varie velocità di reazione con diverse concentrazioni del tampone. Da ricerche di varî

autori viene dimostrato che molti sono i sistemi-tamponi con azione inibitrice, fra essi si ricordano quelli a base di acido borico, di acidi carbossilici ed i sistemi il cui pH sa inferiore a 8 nei quali siano presenti gli ioni Cl^- Br^- I^-. Sono da evitare inoltre tamponi a base di acidi forti.

L'attrezzatura di tale metodo risultava per noi particolarmente adatta, perchè già in funzione nel laboratorio per le determinazioni gasvolumetriche di altre attività enzimatiche.

Si triturano in un mortaio gr. 5 di tessuti vegetali con 1 gr. di quarzo lavato e calcinato e con 5 cc. di una soluzione di peptone al 0,05 %; si lava il pestello con cc. 7,5 di acqua distillata. Per la reazione viene usata una vaschetta con due appendici: in una di esse vengono posti 5 cc. della soluzione tampone a pH 6,8 (ottenuta mescolando cc. 500 di Na_2HPO_4 N/5 e cc. 500 di KH_2PO_4 M/5) e cc. 2 della sospensione enzimatica accuratamente mescolata; nell'altra appendice vengono posti cc. 4 di una soluzione di $NaHCO_3$ e NaOH (ottenuta con $NaHCO_3$ M/5 e NaOH M/50 mescolate in parti uguali). Per la prova in bianco eseguita in parallelo la sospensione enzimatica veniva sostituita da cc. 2 della soluzione di peptone al 0,05 %.

Le due vaschette venivano raccordate mediante tubi di gomma ai rispettivi manometri di Warburg e immerse in bagno termostatico di 15°; una volta raggiunto l'equilibrio termico le vaschette venivano agitate con una media di 400 oscillazioni al minuto e lo svolgimento dell'anidride carbonica veniva seguito con letture ai manometri ogni 30″. La diffusione dalla fase liquida a quella gasosa non è un fattore limitante purchè la prima metà della CO_2 totale sviluppata si svolga in non meno di 15.

Diverse sono le equazioni adottate per misurare l'attività catalitica dell'anidrasi carbonica. Roughton adotta la seguente espressione:

$$1)\quad E = \frac{R - R_o}{R_o}$$

in cui R è la velocità della reazione in presenza del catalizzatore ed R la stessa velocità in assenza di catalizzatore.

In questa nota è stata adottata l'equazione di Mitchell e collaboratori che esprime l'attività dell'enzima in termini di K definita da

$$2)\quad K_a = \frac{K_e - K_t}{C}$$

dove C è la concentrazione dell'enzima, K_e è la costante di velocità della reazione catalizzata e K_t di quella non catalizzata.

Riportiamo nella tabella I alcuni esempi di calcolo relativi alle determinazioni, nei quali si è supposto che le reazioni concernenti l'attività car-

boanidrasica abbiano un andamento manomolecolare analogo a quello delle catalasi.

Ammettendo così che lo sviluppo di CO_2 al tempo t avvenga secondo la:

$$3)\ \frac{dx}{dt} = K_1 e^{-K_2 t}$$

in cui dx è appunto uguale ai mm^3 di CO_2 svolta, e che:

$$4)\ dx = K_1 e^{-K_2 t}$$

integrando si ottiene:

$$5)\ x = -\frac{K_1}{K_2} e^{-K_2 t} + C$$

Introducendo i logaritmi neperiani e tenendo presente che $\frac{K_1}{K_2} = K$ dalla 5) si ha:

$$6)\ K = \frac{1}{t} \ln \frac{A}{A - x} \quad \text{oppure} \quad 7)\ K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{A}{A - x}$$

in cui K è la costante di velocità della reazione usata nelle tabelle sottoriportate, A è il numero dei mm^3 di CO_2 svolti al termine della reazione ed x è il numero di mm^3 di CO_2 svolti al tempo t.

Esempi di calcolo della costante di velocità delle carboanidrasi

Calcolo della costante di velocità di reazione in assenza di enzima

Tabella I

t	x	A — x	lg (A — x)	$\lg \frac{A}{A-x}$	$K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{A}{A-x}$
30″	1	2,35	0,37107	0,15397	0,708
1′	1,87	1,48	0,17026	0,35478	0,816
30″	2,40	0,95	1,97772	0,54732	0,837
2′	7,73	0,62	1,79239	0,73265	0,843
30″	2,91	0,44	1,64345	0,88159	0,811
3′	3,02	0,33	1,51851	1,00653	0,760
30″	3,10	0,25	1,39794	1,12710	0,734
4′	3,18	0,17	1,23045	1,29459	0,735
30″	3,22	0,13	1,11394	1,40660	0,719
5′	3.28	0,07	2,84510	1,67994	0,773
30″	3,30	0,05	2,69897	1,82607	0,750
6′	3,32	0,03	2,47712	2,04792	0,779

Calcolo della costante di velocità di reazione delle carboanidrasi nei tessuti

Tabella II

t	x	A — x	lg (A — x)	$\lg \frac{A}{A-x}$	$K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{A-x}{A}$
30″	2,60	1,09	0,03743	0,52960	2,438
1′	3,25	0,44	1,64345	0,92358	2,125
30″	3,60	0,09	2,95424	1,61279	2,463
2′	3,65	0,04	2,60206	1,96497	2,254
30″	3,68	0,01	2,00000	2,56703	2,364

Tabella III

t	x	A — x	lg (A — x)	$\lg \frac{A-x}{A}$	$K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{A}{A-x}$
30″	3,02	0,81	1,90849	0,67471	3,100
1′	3,68	0,15	1,17609	1,40711	3,243
30″	3,80	0,03	2,47712	2,10608	3,223

Tabella IV

t	x	A — y	lg (A — x)	$\lg \frac{A-x}{A}$	$K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{A}{A-x}$
30″	2,62	1,15	0,06070	0,51564	2,369
1′	3,41	0,36	1,55630	1,02004	2,346
30″	3,60	0,17	1,23045	1,34589	2,050
2′	3,70	0,07	2,84510	1,73124	1,989

Al fine di mettere in risalto la presenza di emoglobina nei tubercoli radicali di *V. faba* abbiamo creduto opportuno eseguire alcuni preparati microscopici avvalendoci dei metodi di colorazione elettiva per il pigmento porfirinico di Müller e di Lephene, che qui riportiamo.

Metodo Müller. — I tessuti fissati in formalina al 10 % vengono sezionati al microtomo; le sezioni vengono colorate in emateina alluminosa per 48 ore, lavate con acqua distillata e quindi trattate col differenziatore di Weigert diluito con acqua distillata. Si procede quindi al lavaggio delle sezioni con conseguente disidratazione in alcool a diverse gradazioni ed in xilolo, e al loro montaggio in balsamo del Canadà. Con questa reazione l'emoglobina si colora in bleu scuro (tav. a col., fig. 1).

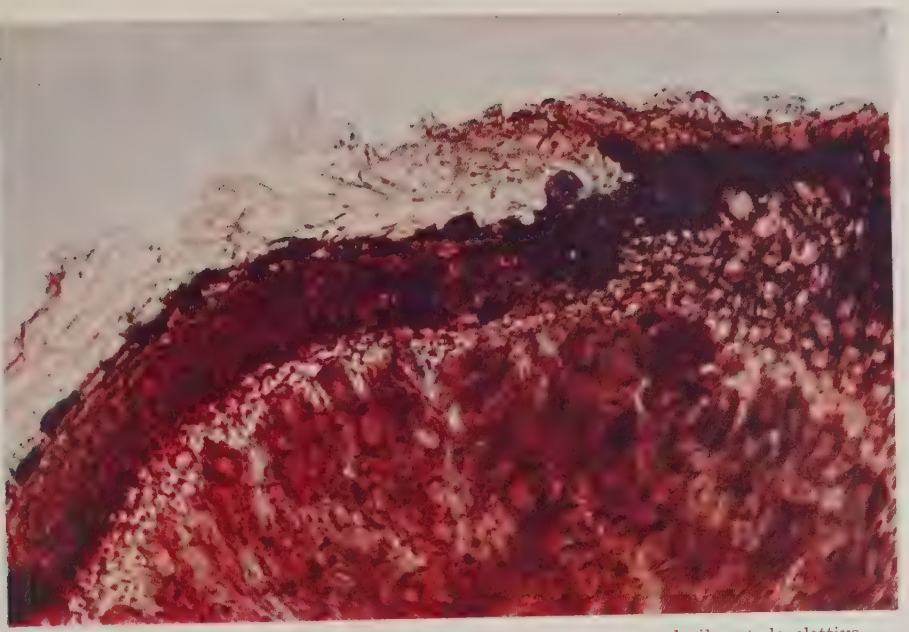


FIG. 1. – Sezione di tubercolo radicale di *Vicia faba* colorato secondo il metodo elettivo per l'emoglobina di Müller.

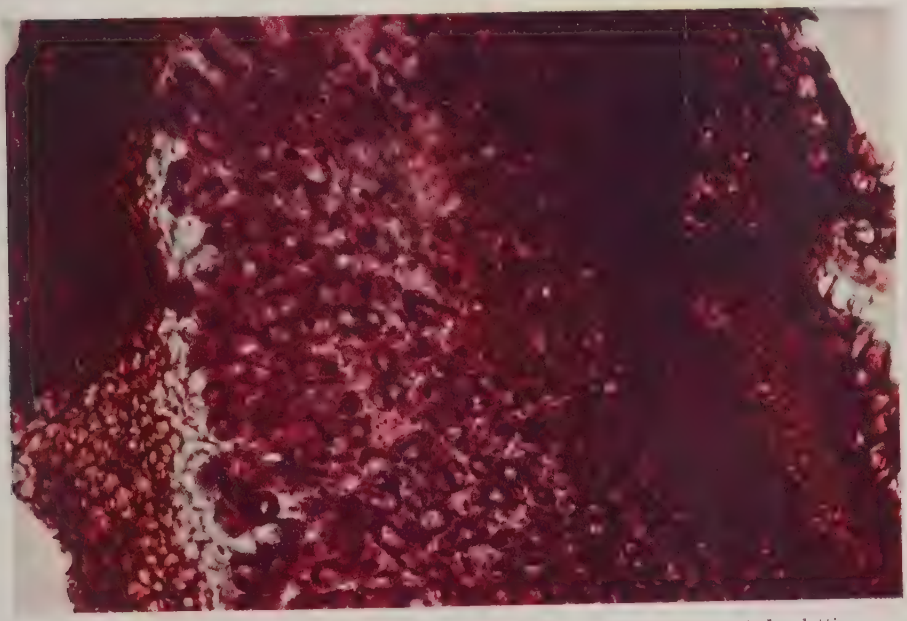


FIG. 2. – Sezione di tubercolo radicale di *V. faba* colorato secondo il metodo elettivo per l'emoglobina di Lephene.

Metodo Lephene. — Si procede alla fissazione ed al sezionamento come per il metodo Müller; si passano quindi le sezioni in una soluzione di eosina al 2 %, si lavano e si passano per 10' in una soluzione alcoolica di benzidina e acqua ossigenata. Dopo un passaggio decrescente in alcool si procede al lavaggio in acqua distillata ed alla loro colorazione con emallume; si disidratano con alcool a diverse gradazioni e xilolo e si montano in balsamo (tav. a col., fig. 2).

Parte sperimentale

Le determinazioni, che appresso riportiamo, relative ai tessuti di *V. faba* sono state eseguite tutte alle ore 15,30 al fine di ottenere dati che potessero essere confrontabili tra di loro poichè, come abbiamo ripetutamente dimostrato in numerose ricerche, le attività enzimatiche variano notevolmente col variare delle ore del giorno (7).

Come si è già accennato nella parte introduttiva, gli enzimi presi in esame nel corso della presente ricerca sono le carboanidrasi, le catalasi e le ossidasi, poichè siamo del parere che essi non solo presiedono le ossidazioni fondamentali che avvengono in seno al protoplasma ed alla idratazione e disidratazione della CO_2 ma siano anche i più interessati appunto per le loro funzioni, alla fissazione simbiotica dell'azoto.

Al fine di rendere più completa la ricerca in oggetto si è indagato nel contempo il contenuto in glutatione ridotto ed ossidato degli stessi tessuti vegetali.

A) Attività enzimatiche e contenuto in glutatione ridotto nei tessuti fogliari.

Nella tabella V sono raccolti i vari reperti concernenti le attività ossidasica, carboanidrasica e catasica ed il contenuto in glutatione ridotto ed ossidato dei tessuti fogliari di *V. faba*.

Malgrado la complessità delle relazioni riscontrate, come mostra il grafico I, che raccoglie i dati della tabella suddetta, si possono mettere in evidenza alcuni rapporti fondamentali. Anzitutto la proporzionalità inversa esistente tra attività catalasica e glutatione ridotto e tra questo e il glutatione ossidato.

Per ciò che riguarda il primo rapporto si è tentata una spiegazione di tali fenomeni ricorrendo a ciò che si definisce iperossia da catalasi. Tenendo presente infatti che una diminuzione di catalasi all'apparecchio si-

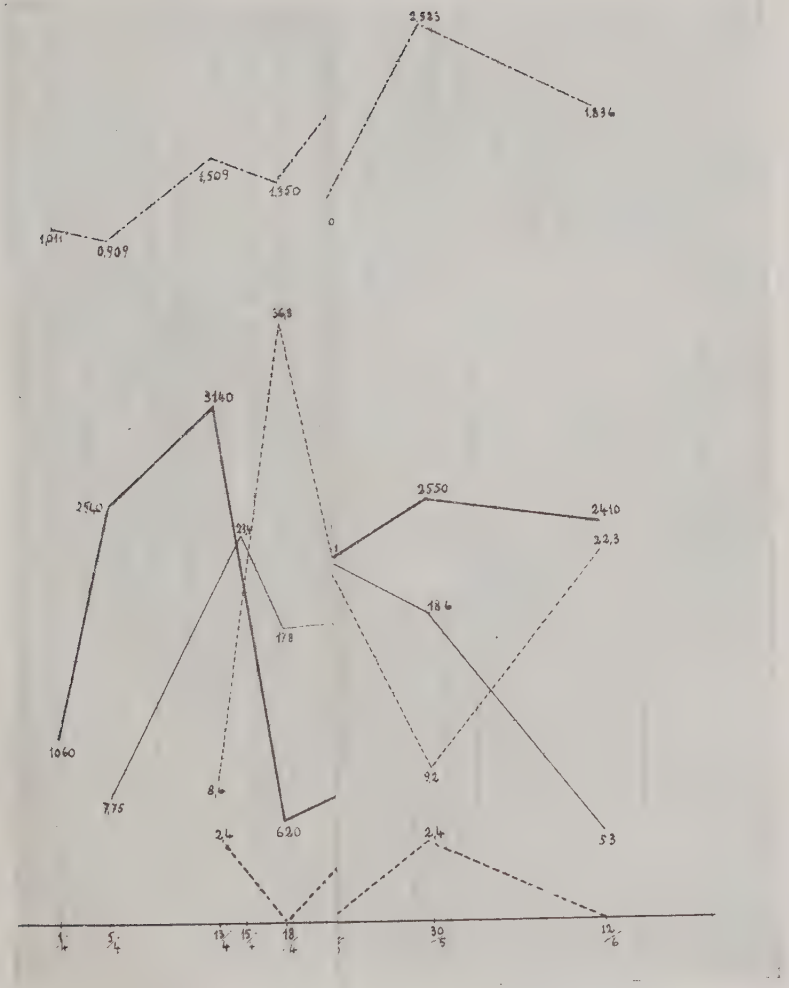
gnifica un aumento dell'attività di tale enzima in cellula, aumento che comporta un arricchimento in ossigeno molecolare da parte dei liquidi protoplasmatici, e che il glutatione si ossida facilmente in condizioni fisiologiche, è logico dedurre che allorchè si registra una diminuzione di catalasi si debba trovare di conseguenza una diminuzione del glutatione ridotto ed un aumento di glutazione ossidato.

Dal grafico I si scorge con facilità una terza relazione la quale sta a confermare ancora una volta come tutte le attività enzimatiche siano fra di loro coordinate. Osservando l'andamento delle costanti di velocità delle carboanidrasi esse risultano direttamente proporzionali al glutatione ossidato. Questa relazione che è la sola che abbiamo trovato per le carbonidrasi, pensiamo sia tale da legare questo catalizzatore a tutto il restante complesso enzimatico dei tessuti fogliari.

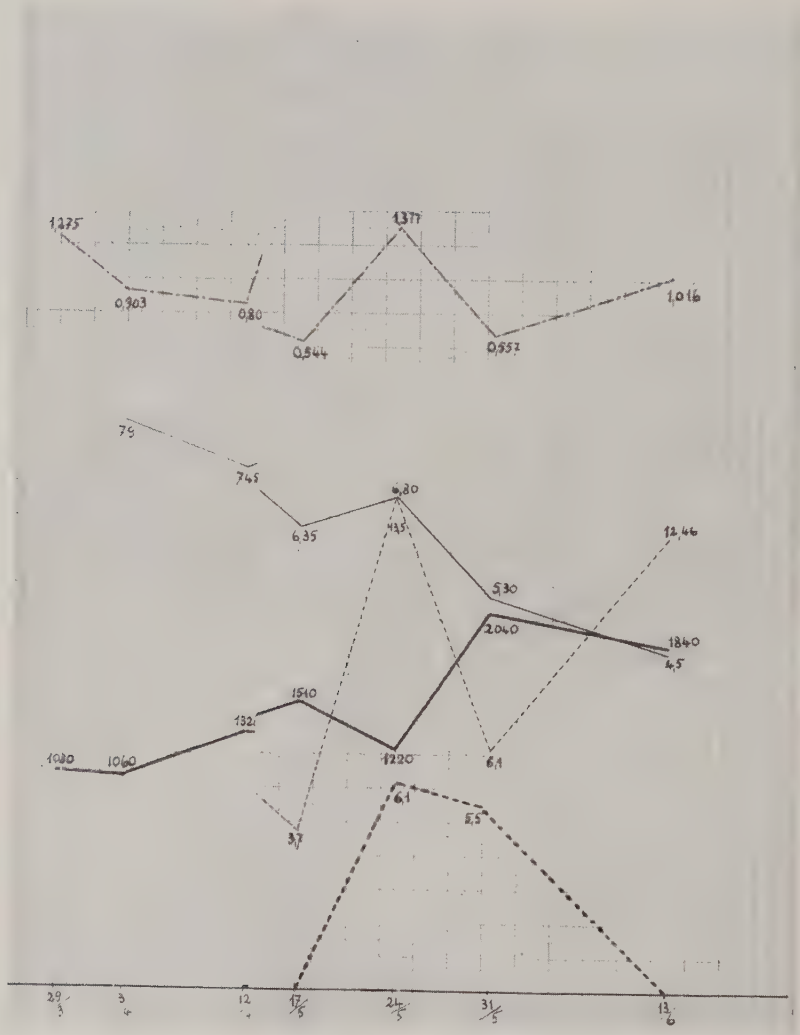
Per quanto riguarda le ossidasi esse aumentano durante il ciclo vegetativo e presentano una zona di depressione dal 18 aprile al 9 maggio che coincide con un aumento del glutatione ossidato e delle carboanidrasi. La curva dell'attività ossidasica conferma quella ottenuta in base alle ricerche effettuate l'anno precedente (8); infatti i due massimi del 13-IV-1950 e del 15-V-1950 e la zona di minimo compresa fra essi hanno riscontro nei massimi del 25-IV-1949 e del 23-V-1949 e nella loro corrispondente zona di minimo. Questo andamento che potrebbe sembrare occasionale è molto probabilmente collegato con la simbiosi batterica della Leguminosa. Nella precedente nota si osservò che con l'inizio della digestione delle forme batteroidi il contenuto in ossidasi dei tessuti fogliari presentava un notevole aumento analogamente a quanto è stato posto in evidenza nel corso di questa ricerca. Tale coincidenza dell'aumento dell'attività ossidasica rilevata nei tessuti fogliari proprio all'inizio della fase di disfacimento dei batteroidi, coincidenza riscontrata per due anni consecutivi, ci induce a considerare fondata l'ipotesi sopra espressa di una correlazione tra i due fenomeni.

Nello stesso periodo, che potremo definire critico per la pianta ospite e che va dal 9 maggio al 22 maggio (vedi grafico I), oltre all'attività ossidasica subiscono notevoli aumenti il glutatione ridotto ed il contenuto in catalasi mentre, per contro, il glutatione ossidato si annulla e la costante di velocità delle carboanidrasi presenta una forte diminuzione.

A proposito della constatazione fatta relativa alla proporzionalità inversa esistente tra glutatione ridotto e catalasi e tra queste e le anidrasi è bene chiarire, al fine di non incorrere in apparenti contraddizioni, che i primi due biocatalizzatori si comportano nel modo sopra esposto per ogni valore e cioè giorno per giorno mentre l'andamento grafico di entrambi presenta dei minimi in corrispondenza della massima attività carboanidra-


2.535
1.836
1.509
1.350
1.011
0.909
0
3140
2540
1060
7.75
8,6
620
2550
2410
22,3
186
178
92
53
2,4
2,4
1/4
5/4
12/4
15/4
18/4
30/5
12/6

O_2



ercoli:

cc O_2
mm^3 O_2
ridotto
ossidato
rbonica

sica. Ad esempio, nel periodo che va dal 9 maggio al 30 maggio si nota un notevole aumento di catalasi e glutatione ridotto con un andamento reciproco che si può definire inversamente proporzionale e, contemporaneamente, una diminuizione del contenuto in anidrasi carbonica.

Riteniamo opportuno includere a questo punto alcuni valori delle attività ossidasica e catalasica determinati nei tessuti fogliari di piante di *V. faba* allevate in altri due diversi appezzamenti di terreno e a diverso regime idrico: e ciò soprattutto per dare una nuova conferma alla proporzionalità inversa intercorrente tra le due attività enzimatiche (tabelle VII e VIII). Tale correlazione, già riscontrata in ricerche precedenti (6,2) in piante di diversa specie risulta netta dal grafico III, dove si può osservare come l'attività ossidasica subisca un aumento durante il ciclo vegetativo della pianta mentre il contrario accade per le catalasi. È da notare, come risulta dalle medie dei valori che le ossidasi dei tessuti provenienti da piante allevate con dosi ridotte di acqua sono notevolmente superiori a quelle dei tessuti delle piante allevate con dosi normali di acqua.

B) Attività enzimatica e contenuto in glutatione ossidato e ridotto ed in emoglobina nei tubercoli radicali.

I dati delle attività enzimatiche e del contenuto di glutatione ridotto ed ossidato riscontrati nei tubercoli radicali di *V. faba* sono stati raccolti nella tabella VI e nel grafico II.

Dai risultati ottenuti si può constatare che mentre le relazioni riscontrate nei tessuti fogliari tra glutatione ossidato e carboanidrasi rimangono invariate nei tubercoli radicali, il rapporto glutatione ridotto/catalasi si inverte divenendo i due biocatalizzatori in questo caso direttamente proporzionali.

Il quadro generale delle attività dei biocatalizzatori esaminati nei tessuti dei tubercoli radicali è pertanto il seguente:

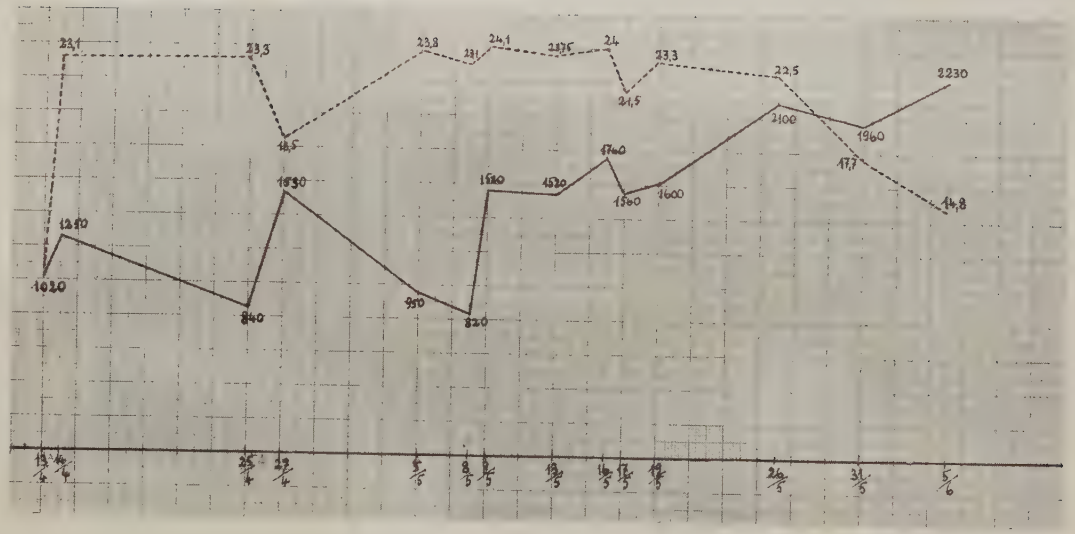
1) sia le carboanidrasi che le catalasi ed il glutatione ridotto ed ossidato sono fra di loro in media direttamente proporzionali a differenza di quanto accadeva nei tessuti fogliari;

2) le ossidasi sono inversamente proporzionali alle catalasi e per conseguenza agli altri biocatalizzatori;

3) come già abbiamo detto, allorchè compare il glutatione ossidato le anidrasi presentano un massimo di attività; è da notare a questo proposito che il glutatione ossidato aumenta considerevolmente nei tubercoli verso la fine del ciclo vegetativo della coltura;

4) le catalasi tendono a diminuire con il progredire della simbiosi mentre il contrario avviene per le ossidasi.

Grafico III



Tessuti fogliari:

- - - - - - - catalasi in cc O_2
——— ossidasi in mm³ O_2

Tabella V

Attività enzimatiche e contenuto in glutatione ridotto ed ossidato nei tessuti fogliari di *V. faba*

Data	Ossidasi in mm³ di O_2	Catalasi in cc. di O_2 svolto	Glutatione ridotto in mmg./gr. di tessuto	Glutazione ossidato in mmg./gr. di tessuto	Carbo anidrasi	Annotazioni
1–IV–1950	1060				1,011	fioritura
5–IV–1950	2540	7,75			0,909	
13–IV–1950	3140	23,40	8,6	2,4	1,509	
18–IV–1950	620	17,80	36,3	zero	1,350	
24–IV–1950	840	18,20	14,1	2,2	2,131	inizio allegagione
29–IV–1950	800	16,20	17,9	5,1	2,562	
9–V–1950	1000	23,20	19,0	zero	1,676	
15–V–1950	2510	19,70	22,7	zero	1,268	
22–V–1950	2180	22,00	22,1	zero	1,110	
30–V–1950	2550	18,60	9,2	2,4	2,523	
12–VI–1950	2410	5,30	22,34	zero	1,836	

Tabella VI

Attività enzimatiche e contenuto in glutatione ridotto ed ossidato nei tessuti tubercolari di *V. faba*

Data	Ossidasi in mm³ di O_2 assorbito	Catalasi in cc. di O_2 svolto	Glutatione ridotto in mmg./gr. di tessuto	Glutatione ossidato in mmg./gr. di tessuto	Carbo-anidrasi	Annotazioni
29–III–1950	1080	7,90			1,275	
3–IV–1950	1060	7,45			0,903	
12–IV–1950	1320	7,65			0,800	
17–IV–1950	1330	7,00	5,30	0,60	2,400	
26–IV–1950	990	6,35	5,70	zero	0,596	
2–V–1950	1430	7,50	3,34	zero	0,923	
10–V–1950	1350	6,35	6,10	zero	0,755	
17–V–1950	1510	6,80	3,70	zero	0,544	il 15–V comparve la biliverdina (inizio disfacimento dei batteroidi)
24–V–1950	1220	5,30	13,50	6,10	1,377	
31–V–1950	2040	4,50	6,10	5,50	0,557	
13–VI–1950	1840		12,46	zero	1,016	

Tabella VII

Attività enzimatiche nei tessuti fogliari di *V. faba* allevata con dosi normali di acqua

Data	Ossidasi in mm³ di O_2 assorbito	Catalasi in cc. O_2 svolto
13-IV	1020	10,7
14-IV	1250	23,1
25-IV	840	23,3
27-IV	1530	18,5
5-V	950	23,8
8-V	820	23,1
9-V	1580	24,1
13-V	1520	23 75
16-V	1760	24
17-V	1560	21,5
19-V	1600	23,3
26-V	2100	22,5
31-V	1960	17,7
5 VI	2230	14,8
Medie . . .	1480	21

Tabella VIII

Attività enzimatiche dei tessuti fogliari d' *V. faba* allevata con dosi ridotte di acqua

Dtaa	Ossidasi in mm³ di O_2 assorbito	Catalasi in cc. O_2 svolto
4-IV	2120	18
5-IV	2950	18
6-IV	2460	19,1
19-IV	740	21
22-IV	830	17,9
3-V	980	25,4
4-V	1820	19,5
10-V	3200	23
12-V	1810	21,6
15-V	1580	18,9
23-V	2600	9,85
25-V	1330	11,65
27-V	1365	11
29-V	660	17,75
30-V	1840	12,10
1-VI	2280	14,1
6-VI	2470	9,75
Medie . . .	1841	16,98

Come è stato premesso nella parte introduttiva, tali ricerche sono state condotte al fine di chiarire le correlazioni eventuali che possono esistere tra il contenuto enzimatico dei tessuti vegetali e le variazioni subite dalle forme batteriche nonchè tra queste e la presenza di emoglobina.

La recente scoperta di Kubo (1939), che riscontrava la presenza di emoglobina nei tubercoli radicali delle Leguminose, e quella quasi contemporanea di Sato e Tamiya (1937), che rintracciavano tale pigmento nei *Paramecium*, ha modificato l'opinione che la presenza di emoglobina fosse caratteristica dei soli vertebrati.

Keilin e Wang (1945) studiando il problema della presenza di emoglobina nei noduli delle Leguminose giungevano alla conclusione che (3): « Le Rhizobium ne provoque pas seulement la croissance et la multiplication des cellules, mais fournit aussi à ces cellules en voie de proliferation, directement ou indirectement, un facteur nécessaire à la synthèse de l'emoglobine ».

Così l'emoglobina, secondo tali autori, avrebbe il ruolo di produrre nelle nodosità le condizioni ottimali per il processo di ossidazione con il quale la fissazione dell'azoto può essere associata. Le reazioni secondo Virtanen e Laine (1946) sarebbero:

1) N_2 + metemoglobina (Fe^{+++}) $\rightleftarrows$ NH_2OH + emoglobina (Fe^{++})

2) NH_2OH + COOH-CO-CH_2-COOH $\rightleftarrows$ COOH-C(NOH)-CH_2-COOH + H_2O

3) COOH-C(NOH)-CH_2-COOH $\rightarrow$ COOH-CH(NH_2)-CH_2-COOH

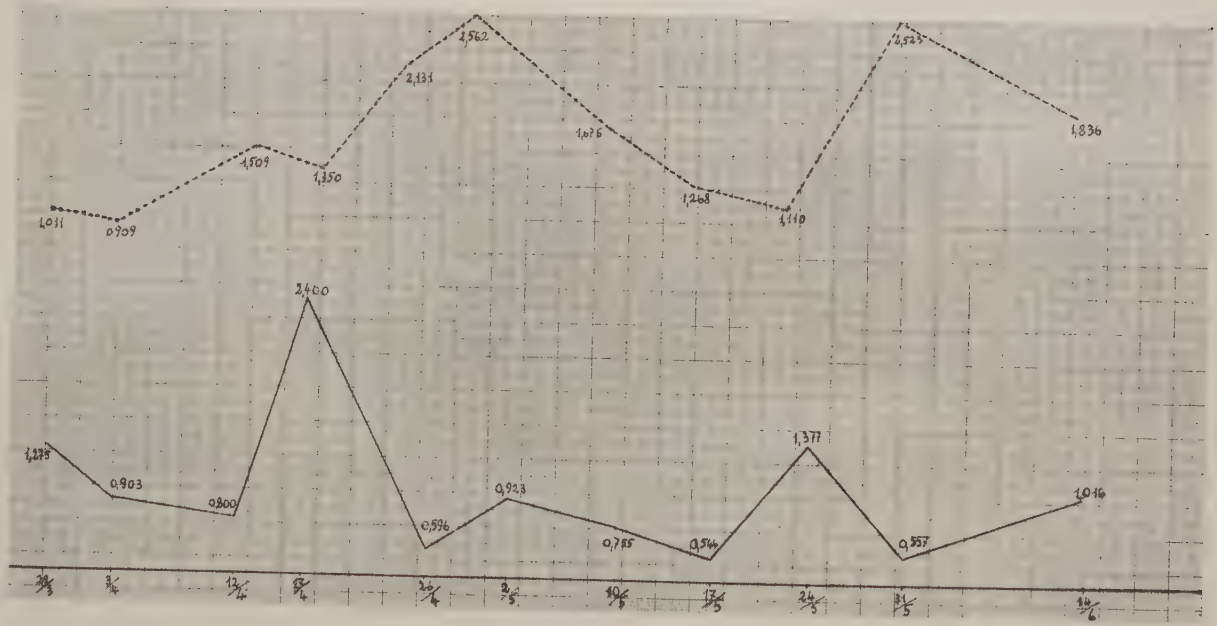
ossima ossalacetica — riduzione — ac. aspartico

È da tener presente che secondo Keilin e Smith (1947) è da scartare l'ipotesi della presenza di metemoglobina come normale costituente dei noduli radicali delle Leguminose poichè essi pensano che la fissazione dell'azoto non debba comportare come conseguenza un aumento di valenza del ferro.

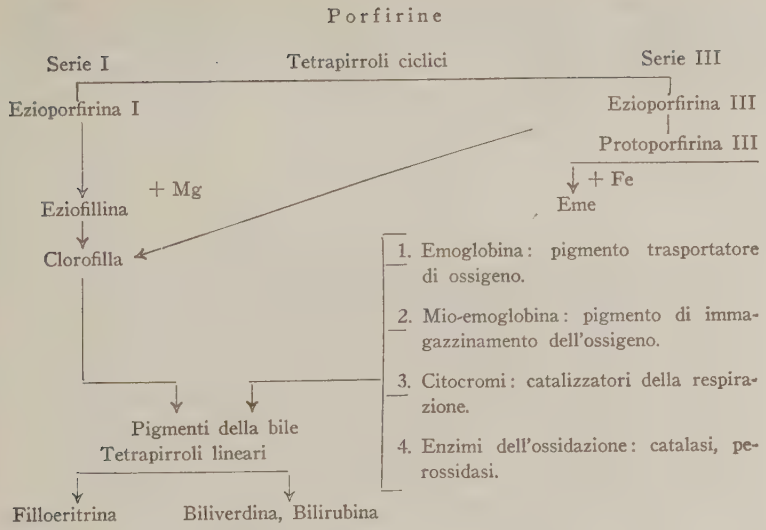
La riconosciuta presenza dell'emoglobina o di composti analoghi in particolari tessuti vegetali non deve meravigliare, perchè è noto che la storia, se così si può dire, del nucleo porfirinico inizia proprio nelle piante (1), dove l'anello del pirrolo viene normalmente sintetizzato ed appare in aminoacidi del tipo triptofano, prolina, ossiprolina, ecc., in pigmenti come la clorofilla ed ancora in enzimi del gruppo eme quali la catalasi e le perossidasi (4).

Lo schema seguente dà un'idea sufficientemente chiara dei rapporti che legano le varie porfirine tra di loro e l'evoluzione che subiscono allorchè si legano al magnesio ed al ferro.

GRAFICO IV



anidrasi carbonica nelle foglie
anidrasi carbonica nei tubercoli radicali



La presenza dell'emoglobina supposta accertata con le reazioni Müller e di Lephene, è compatibile anche con il diverso comportamento delle anidrasi la cui presenza si riscontra nei soli tubercoli e non nelle radici. Questo enzima contenente zinco e catalizzante la reazione $H_2O + CO_2 \rightleftarrows H_2CO_3$, durante il ciclo vegetativo presenta nei tessuti fogliari di *V. faba* un andamento che si può ritenere antitetico a quello riscontrato nei tubercoli (grafico IV), tanto che si potrebbe pensare che il vegetale nella simbiosi ricorra allo stesso meccanismo di cui, nei riguardi della fissazione della CO_2 ad opera dell'emoglobina, si servono gli animali superiori; è infatti noto che in quest'ultimi, mentre nelle cellule del tessuto polmonare l'attività delle anidrasi è volta a catalizzare la reazione verso sinistra negli altri tipi di cellule tale reazione è orientata verso destra.

Le carboanidrasi inoltre, mentre nei tessuti fogliari sono inversamente proporzionali al complesso glutatione ridotto-catalasi, nei tubercoli, come abbiamo sopra accennato, esse si mostrano direttamente proporzionali a quest'ultimo.

Questa inversione del chimismo relativo ai complessi, che si verifica nei due differenti tipi di tessuti, allorchè si è in presenza di emoglobina, ci fa propendere per l'importanza che quest'ultima esercita sulla fissazione simbiotica dell'azoto.

Interessante è la comparsa di biliverdina allorchè la reazione dell'emoglobina risulta negativa come si può rilevare dalla tabella VI; è da rilevare che l'emoglobina scompare allorchè i batteroidi e il tessuto batteroide sono in pieno disfacimento.

Conclusioni

Gli AA. non si sono soffermati sulle reazioni che interessano da vicino la simbiosi mutualistica della Leguminosa, cioè il chimismo relativo alla sintesi dell'azoto, ma hanno invece osservato le variazioni e le correlazioni dei fattori che condizionano tale sintesi, affermando il concetto secondo il quale i vari biocatalizzatori sono i responsabili diretti delle reazioni, e che quindi, al fine di conoscere nel suo vasto insieme un processo di sintesi, quale può essere quello della fissazione simbiotica dell'azoto, è necessario indagare i rapporti quantitativi che legano tali biocatalizzatori tra di loro.

Sono state quindi seguite le variazioni e le correlazioni intercorrenti tra le carboanidrasi, le ossidasi, le catalasi, il glutatione ridotto ed il glutatione ossidato nei tessuti fogliari e nei tuberi di *V. faba*.

Dai valori riportati nelle tabelle V-VIII e nei grafici I-IV si può concludere che:

A) Nei tessuti fogliari:

1) le catalasi sono inversamente proporzionali al contenuto in glutatione ridotto e quest'ultimo è a sua volta inversamente proporzionale al glutatione ossidato; viene suggerita una spiegazione di tale fenomeno nella iperossia da catalasi;

2) l'andamento delle costanti di velocità delle carboanidrasi è direttamente proporzionale alla curva rappresentante il contenuto in glutatione ossidato; tale correlazione collega tale enzima con tutto il complesso enzimatico dei tessuti fogliari;

3) le ossidasi mostrano durante il ciclo vegetativo un andamento che messo in relazione con il procedere della simbiosi, risulta uguale a quello già riscontrato nelle precedenti ricerche; la zona di minimo 18 aprile-9 maggio presentata dall'attività ossidasica corrisponde ad un aumento del glutatione ossidato e delle carboanidrasi;

4) l'inizio della fase di disfacimento (9 maggio-22 maggio) dei batteroidi è caratterizzata da un aumento dell'attività ossidasica e del

glutatione ridotto e delle catalasi, dall'annullamento del glutatione ossidato e da una forte diminuzione della costante di velocità delle carboanidrasi.

Vengono quindi riportati alcuni valori di attività ossidasica e catalasica di piante di *V. faba* allevate sotto regimi idrici differenti, che confermano l'inversa proporzionalità esistente tra i due enzimi.

B) Nei tubercoli radicali:

1) le carboanidrasi sono anche qui direttamente proporzionali mentre il glutatione ridotto diventa direttamente proporzionale alle catalasi;

3) le ossidasi sono inversamente proporzionali alle catalasi ed agli altri biocatalizzatori; esse aumentano durante il ciclo biologico;

3) comparendo il glutatione ossidato, le carboanidrasi presentano un massimo di attività; il glutatione ossidato aumenta considerevolmente verso la fine del ciclo vegetativo della coltura;

4) le catalasi tendono a diminuire e le ossidasi ad aumentare con il progredire della simbiosi.

Gli AA., con le reazioni di Müller e di Lephene hanno posto in evidenza la presenza di emoglobina nei tessuti dei tubercoli radicali. Poichè in tali tessuti allorchè è presente l'emoglobina si nota una inversione del chimismo relativo ai complessi studiati, si è propensi a credere che il pigmento porfirinico abbia una fondamentale importanza nelle reazioni relative alla fissazione simbiotica dell'azoto.

RIASSUNTO

Oggetto di questa Nota sono le variazioni e le correlazioni esistenti tra attività ossidasica, carboanidrasica e catalasica, glutatione ossidato e ridotto nei tessuti fogliari e nei tubercoli radicali di *Vicia faba*.

Gli A.A. hanno notato, per i tessuti fogliari, che l'attività carboanidrasica è in proporzione diretta con il contenuto in glutatione ossidato; l'attività ossidasica mostra un valore massimo (come risulta anche da precedenti ricerche) che è in corrispondenza con la fase di disfacimento delle forme batteroidi del *Bacterium radicicola*.

Nello stesso periodo il glutatione ossidato si annulla e l'attività carboanidrasica diminuisce.

Nel corso delle ricerche è stata accertata la proporzionalità inversa tra attività ossidasica e catalasica.

Nei tessuti dei tubercoli è stata osservata la presenza di carboanidrasi il cui contenuto è direttamente proporzionale alla catalasi; mentre l'attività ossidasica tende ad aumentare con il progredire della simbiosi, quella catalasica diminuisce; il glutatione ossidato aumenta verso la fine del ciclo biologico.

Sono state riprodotte nella tavola fuori testo due microfotografie che mettono in evidenza la presenza di emoglobina nei tessuti dei tubercoli radicali.

SUMMARY

OXIDASE, CATALASE AND CARBOANIDRASE ACTIVITIES AND REDUCED/OXIDATED GLUTATHIONE CONTENT IN RELATION TO BACTERIAL SYMBIOSIS OF BROAD BEAN. II.

by Luciano Tombesi and Maria Elisa Venezian

The object of this paper is to study the variations and the correlations existing in carboanidrase, oxidase and catalase activities, and reduced/oxidated glutathione, in leaf and tubercle tissues of *Vicia faba*.

For the leaf tissues the authors remarked that carboanidrase activity is in direct proportion to the oxidated glutathione content; the oxidase activity, as shown also by the results of previous researches, is high and is in correspondence with the dissolution phase of bacteroid forms of *Bacterium radicicola*.

In the same period oxidated glutathione is null and carboanidrase activity is greatly decreased.

In the course of other researches on the leaf tissues of *V. faba* the indirect proportion between catalase and oxidase activities was ascertained.

In the tubercle tissues the presence of carboanidrase in direct proportion with catalase was observed as the oxidase activity tends to increase with the symbiosis progress, the catalase is decreasing; oxidated glutathione was greatly increased towards the end of the biological cycle.

Two photographs of sections coloured electively to show the hemoglobin-like pigment are reproduced.

BIBLIOGRAFIA

(1) Fearon, W. R. An introduction to biochemistry. London, 1946.

(2) Fortini, S., e Venezian, M. E. Studio su alcuni sistemi enzimatici dell'*Arachis hypogaea*. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV.

(3) Quastel, J. H. Le metabolisme de l'azote dans le sol. *Endeavour,* 1947, VI, 23.

(4) Sexton, W. A. Chemical constitution and biological activity. London, 1949.

(5) Tombesi, L. Respirazione ed attività ossidasica e catalasica durante i processi di cicatrizzazione su tuberi sani e malati di *Solanum tuberosum*. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1949, n. s., vol. III.

(6) Tombesi, L. Variazioni diurne del contenuto in acido ascorbico e glutatione ridotto e dell'attività ossidasica e catalasica su tessuti fogliari. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1951, n. s., vol. V.

(7) Venezian, M. E. L'attività ossidasica in relazione con la simbiosi batterica delle leguminose. Nota I. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV.

Ricevuto il 24 settembre 1951.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Luciano Tombesi e Matilde Tarantola

VARIAZIONI DEL CONTENUTO IN GLUTATIONE ED ACIDO ASCORBICO, E DELL'ATTIVITÀ OSSIDASICA E CATALASICA, DURANTE I PROCESSI DI FITOCICATRIZZAZIONE

Premessa

Negli anni precedenti furono eseguite delle ricerche riguardanti i processi di cicatrizzazione su tuberi di *Solanum tuberosum* onde studiare le correlazioni esistenti tra intensità respiratoria e attività ossidasica e catalasica, su tessuti sani e tessuti infettati con *Penicillium* sp.

Nella presente ricerca abbiamo voluto approfondire lo studio, aggiungendo alle attività enzimatiche suddette le determinazioni di due trasportatori di idrogeno: il glutatione, totale e ridotto, e l'acido ascorbico.

Non molto numerosi sono stati gli autori che hanno seguìto sistematicamente il processo dal punto di vista biochimico, pur non mancando ricerche in proposito per quanto concerne il contenuto e le caratteristiche dei vari enzimi respiratori dei tuberi di *S. tuberosum*.

Così Wallerstein e Rapper misero in evidenza con studi profondi ed accurati la formazione di tiro-fenazina dal « corpo rosso » e la natura molecolare delle polifenol-ossidasi.

Le relazioni però che possono esistere fra l'intensità respiratoria e l'attività dei vari enzimi e mesocatalizzatori durante i processi di cicatrizzazione sono molto scarse.

Dati tali precedenti, per le seguenti ricerche la scelta è caduta sui tuberi di *S. tuberosum* in quanto essi sono organi di riserva che, per aver perduto le relazioni di biochimismo con la pianta madre, hanno assunto caratteristiche di vita individuale autonoma, presentando inoltre il vantaggio di non essere sede di sintesi clorofilliana, la quale avrebbe potuto alterare i risultati sperimentali attraverso un'interferenza con i processi della cicatrizzazione stessa.

Tecnica seguìta

Circa la tecnica relativa alle determinazioni dell'attività ossidasica e catalasica e della misura dell'acido ascorbico e glutatione si rimanda il lettore ad altre note precedenti nelle quali essa è stata descritta (1). I tuberi scelti per le ricerche sono stati conservati al buio per circa 15 giorni dall'inizio della raccolta e presentavano un periderma sottile facile a togliersi. Ci si è serviti di tale materiale perchè nelle precedenti note si constatò, come d'altronde era da attendersi, che i tuberi di recente raccolto avevano tessuti che nei riguardi della cicatrizzazione erano molto più sensibili e davano luogo a variazioni notevoli di attività enzimatiche. Essi sono stati ripartiti in due serie contraddistinte I e II provenienti da differenti terreni. Durante le varie fasi dei lavori il materiale veniva posto in termostato, al buio, a 25° C. all'80 % di umidità relativa; i recipienti nei quali i tuberi sezionati furono posti vennero sterilizzati e mantenuti per quanto possibile tali. Le determinazioni furono eseguite su strati cicatriziali di 2 mm di spessore.

Parte sperimentale

Poichè nella nota precedente (2) era stata studiata, come abbiamo accennato, la respirazione, crediamo utile riportare i dati riguardanti questa nella tabella I; l'intensità respiratoria si riferisce ai tuberi interi,

Tabella I

Tempo in ore dall'inizio del taglio	Respirazione in mgr. CO_2 per 1000 gr. sostanza fresca: tuberi interi	Respirazione in mgr. CO_2 per 1000 gr. sostanza fresca: semituberi normali			Respirazione in mgr. CO_2 per 1000 gr. sostanza fresca: semituberi con strato di paraffina		Respirazione in mgr. CO_2 per 1000 gr. sostanza fresca: semituberi di lavati	Osservazioni
—	14,13	—	—	—	—	—	—	Le temperature d'esperienza oscillavano da 15° C ai 18° C. L'umidità media dei tuberi era dell'86,28 % Come termini di paragone sono stati presi i dati riferiti nella II prova dei semituberi normali.
—	12,57	—	—	—	—	—	—	
—	10,51	—	—	—	—	—	—	
inizio taglio	—	37,38	38,61	21,96	17,62	12,08	21,96	
24 ore	—	44,80	41,43	39,30	10,32	7,60	27,39	
48 ore	—	40,54	35,71	14,82	5,10	6,08	16,83	
72 ore	—	32,90	31,87		5,43	6,81	—	
96 ore	—	—	—		5,43	6,49	—	
120 ore	—	28,95	28,87		—	—	—	

ai semituberi normali, ai semituberi ai quali era stato sovrapposto sulla superfice di taglio uno strato di paraffina e quelli la cui superfice di taglio era stata sottoposta a forte dilavamento con acqua distillata.

Le due ultime prove quelle cioè relative allo strato di paraffina e ai semituberi dilavati furono eseguite al fine di osservare se l'esaltazione della respirazione dovesse essere imputata alla superfice lesa o a tutto il semitubero. I risultati ottenuti dimostrano come soltanto la parte lesa è in effetti quelle interessata al fenomeno, che l'asportazione di ormoni da ferita del tipo acido traumatico effettuata con il lavaggio o con l'apposizione di uno strato di paraffina, attenua specialmente dopo le prime 24 ore dal taglio, l'intensità respiratoria. Partendo quindi dalla constatazione che è soltanto lo stato cicatriziale ad essere interessato al fenomeno le determinazioni relative al glutatione ridotto e totale all'acido ascorbico ridotto, alle deidrasi ossitrope ed alla catalasi furono eseguite su superfici cicatriziali di 2 mm. di spessore.

Nella tabella II vengono riferiti i valori relativi alle analisi eseguite nelle due serie di tuberi, mentre nel grafico allegato sono riportati i dati riguardanti la sola serie I.

Tabella II

Tempo dall'inizio del taglio in ore	Glutatione in mmgr. per 100 gr. di sost. fresca — 1ª serie			Glutatione in mmgr. per 100 gr. di sost. fresca — 2ª serie			Ac. ascorbico in mgr. per 100 gr. sost. fresca		Catalasi cc. O_2 liberato		Ossidasi mm^3 O_2 assorbito	
	totale	ridotto	ossidato	totale	ridotto	ossidato	1ª serie	2ª serie	1ª serie	2ª serie	1ª serie	2ª serie
0	2,45	2,45	—	3,31	3,31	—	31	33,4	6,4	4,4	310	290
24	2,2	1,9	0,3	3,2	2,45	0,75	48	50	5,4	4,8	800	320
48	2,21	1,35	0,86	3,2	1,23	1,97	44	36,6	7	4,1	610	300
72	2	0,74	1,21	3,3	1,16	2,14	50,2	38,6	6,5	4,2	500	360
96	2,24	1,14	1,10	3,0	0,00	3,0	13,3	20	7,8	8,4	570	500
120	2,45	1,35	1,10	3,2	0,85	2,35	0,00	20	8,8	6,2	850	550
144	2,02	0,73	1,29	3,3	0,85	2,45	42	46	9	7,2	1060	560

Partendo dall'andamento del processo respiratorio che costituisce la risultante del fenomeno si nota quanto segue:

a) l'attività catalasica dall'inizio del taglio a 72 ore risulta essere inversamente proporzionale alla respirazione. Supponendo, come vedremo in seguito a proposito del glutatione, che ogni cellula contenga una determinata quantità di catalasi, allorchè questa viene a reagire secondo le note reazioni di Chance (3) con diverse quantità di H_2O_2 proveniente da fatti respiratori è da ritenersi che esso fornisca all'apparecchio valori

di attività che costituiscono la differenza fra le quantità che si è inattivata e quella che non ha reagito;

b) l'attività delle deidrasi ossitrope è direttamente proporzionale almeno nel primo stadio all'intensità respiratoria.

Si è studiato il tipo di queste ossidasi onde accertare se esse fossero acido ascorbico-ossidasi, tirosinasi, penolasi, ecc.

Furono pertanto eseguite diverse misure nelle quali come substrati si usarono rispetto alle prove normali soltanto acido ascorbico, catecolo e adrenalina. Dalla tabella III è evidente che le ossidasi dei tuberi di *S. tuberosum* sono del tipo polifenolossidasi, mentre l'acido ascorbico-ossidasi risultano assenti.

Tabella III

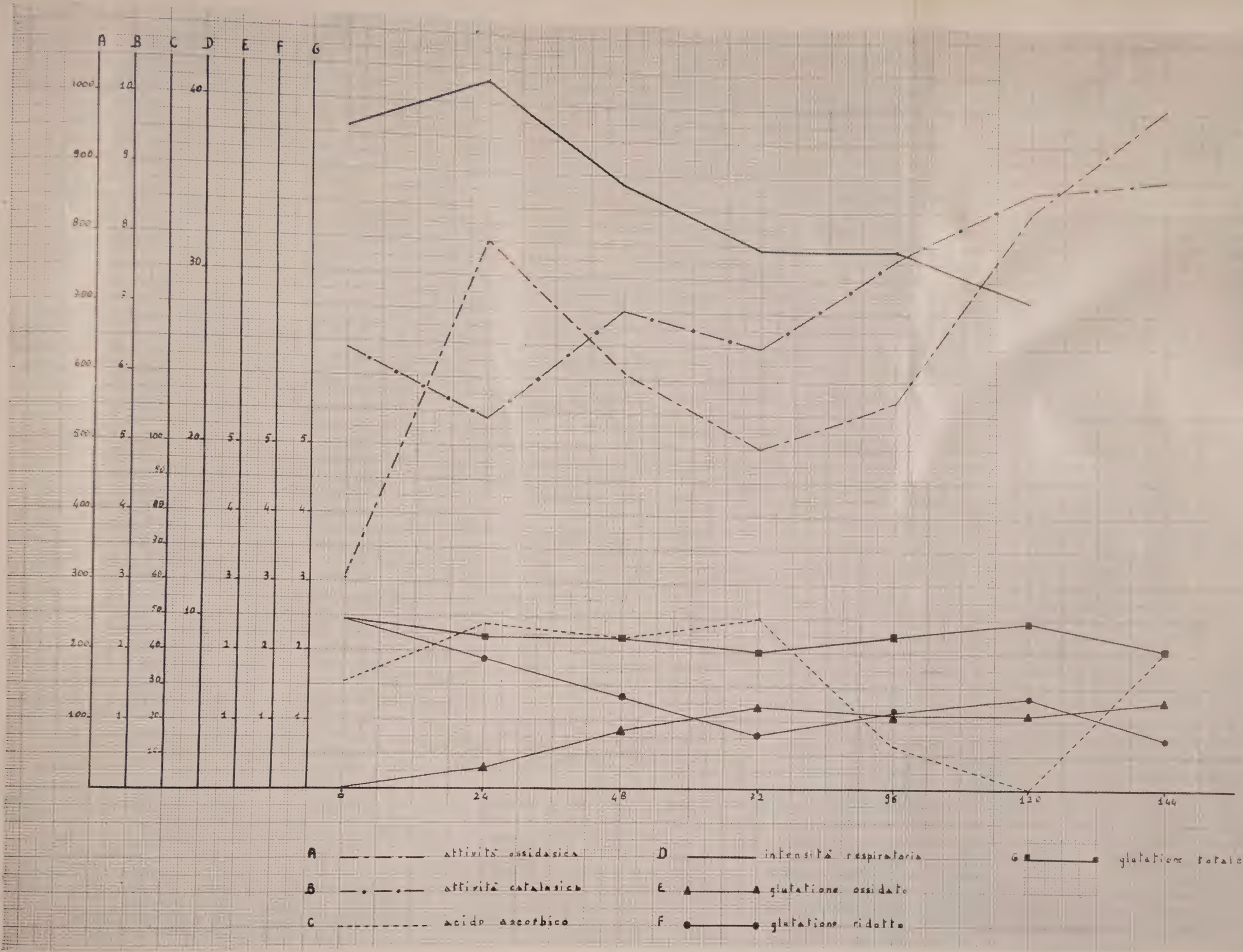
	Attività ossidasica: mm^3 O_2 assorbito		
	esp. 1	esp. 2	esp. 3
Determ. normale	570	480	680
Determ. con solo ac. ascorbico . .	0,00	0,00	0,00
Determ. normale	390	450	500
Determ. con solo catecolo	240	300	280
Determ. normale	890	400	600
Determ. con sola adrenalina	900	400	710

È interessante a questo proposito notare che l'adrenalina, composto con nucleo benzenico avente 2 ossidrili in posizione orto, si comporta alla stregua del catecolo dando in assenza di acido ascorbico colorazioni rosse che fanno pensare alla formazione di composti molto simili a quelli studiati dal Rapper. Tali colorazioni non si ottengono allorchè nel substrato è contenuto acido ascorbico, in quanto secondo le:

$$1)\ \text{O-difenolo} + (\text{ossidasi}) + O_2 \rightleftarrows \text{chinone} + H_2O_2$$

$$2)\ \text{chinone} + (\text{deidrasi}) + \text{ac. ascorbico} \rightleftarrows \text{O-difenolo} + \text{ac. deidroscorbico}$$

è stato verificato che la presenza di acido ascorbico congiunta o no ad un eccettore di idrogeno, in questo caso deidrasi, riconduce i composti bruni di tipo chinonico e fenoli incolori. La funzione dell'acido ascorbico è stata studiata anche in rapporto alle eventuali inibizioni che questo energico riducente poteva produrre sulle catalasi. All'uopo furono preparate soluzioni neutre di acido ascorbico onde evitare eventuali interferenze degli ioni idrogeno sull'attività dell'enzima che come è noto mantiene la massima attività intorno a ph 7,8 (4).


A B C D E F G
1000 900 800 700 600 500 400 300 200 100
10 9 8 7 6 5 4 3 2 1
40 30 20 10
100 80 60 50 40 30 20
5 4 3 2 1
0 24 48 72 96 120 144
A attività ossidasica
B attività catalasica
C acido ascorbico
D intensità respiratoria
E glutatione ossidato
F glutatione ridotto
G glutatione totale

Nella tabella IV nella quale sono raccolti i dati si nota come la presenza di acido ascorbico tenda notevolmente a diminuire il contenuto in catalasi. Il rispettivo andamento delle due funzioni acido ascorbico-catalasi riportate nel grafico I conferma quanto si è verificato in *vitro*.

Tabella IV

Attività catalasica: cc. O_2 svilup.	
determ. in presenza di acido ascorbico naturale	determ. normale
4,8	16,4
15,2	7,65
19,1	10,8
15,0	5,8
17,0	6,1
15,1	5,9

Nel quadro che lega la respirazione a tale complesso enzimatico è da porre in evidenza che i fenomeni descritti in questa nota gli autori li hanno riscontrati anche studiando i sistemi enzimatici di vari generi come *Nicotiana, Arachis, Triticum,* ecc. pur tenendo in dovuta considerazione le diversità qualitative dei tessuti sottoposti allo studio. Così sperimentando con la stessa metodologia, su *Arachis* (5) e *Nicotiana* (6) si osservò che il contenuto in acido ascorbico ridotto presenta un andamento che è nettamente opposto a quello delle catalasi eccettuati particolari stati fisiologici e per determinate ore del giorno poichè abbiamo dimostrato che tali correlazioni sono diverse a seconda che si riferiscono alle ore antimeridiane o pomeridiane;

c) per quanto concerne il glutatione ridotto come risulta dai valori riportati si può notare che esso, almeno nel primo tratto della curva, pur diminuendo con il procedere della cicatrizzazione, risulta nel suo andamento inversamente proporzionale all'acido ascorbico.

È interessante notare che il contenuto in glutatione totale si mantiene quasi costante durante il processo di cicatrizzazione.

Tale andamento per noi acquista un notevole valore, poichè convalida l'ipotesi sovra espressa a proposito delle catalasi, che gli enzimi e i trasportatori di elettroni in generale debbono risultare costanti come contenuto, mentre di essi possono variare, a volte in maniera considerevole, le rispettive forme ossidate e ridotte o quelle attive e inattive.

Se i rapporti sin qui visti tra enzimi e trasportatori di idrogeno risultano relativamente chiari non è agevole correlare ad essi l'intensità respiratoria esaltata dal trauma.

Infatti se dall'inizio del taglio a 72 ore l'attività ossidasica, l'acido ascorbico, il glutatione ossidato sono direttamente proporzionali alla respirazione e l'attività catalasica registrata all'apparecchio inversamente proporzionale ad essa, dopo tale periodo l'intensità respiratoria sembra rendersi indipendente dall'andamento di tutti i gruppi enzimatici.

Questa osservazione è significativa in quanto avendo riscontrato che la barriera cicatriziale dei neo tessuti normali o patologici dei semituberi a 72 ore è ormai avvenuta, l'andamento del fenomeno viene a perdere la sua peculiare fisionomia e ciò perchè molto verosimilmente la permeabilità all'O_2 dei tessuti sottoposti al trauma viene ad essere notevolmente ridotta.

In questo stadio si può pensare che diminuendo la respirazione e aumentando l'attività delle deidrasi aerobiche i processi di demolizione, che avvengono nei tessuti traumatizzati, si avviino verso una fase a carattere fermentativo tale che pur avendosi un consumo di O_2 non si abbia una corrispondente formazione di CO_2. Tale ipotesi concilia l'aumento dell'attività ossidasica e catalasica del glutatione ridotto con la diminuzione dell'intensità respiratoria e dell'acido ascorbico.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno voluto studiare le relazioni esistenti tra intensità respiratoria ed alcuni enzimi quali le deidrasi ossitrope (ossidasi), catalasi, ed il contenuto in glutatione, ridotto ed ossidato, e acido ascorbico durante i processi di cicatrizzazione su tuberi di *Solanum tuberosum*.

I risultati sperimentali relativi al chimismo dei tessuti di neoformazione hanno permesso agli AA. di trarre le seguenti conclusioni:

1) L'intensità respiratoria presenta un massimo a 24 ore dal trauma dopo di che tende a diminuire notevolmente.

Appena sezionato il tubero, i tessuti presentano un incremento immediato di questa funzione tale da superare di 4 o 5 volte il valore del tubero intero.

2) Il contenuto in catalasi durante tali processi presenta un andamento che varia nei diversi casi; molto probabilmente ciò è dovuto al fatto che le due serie di tuberi hanno un diverso grado di maturazione. Gli autori hanno dimostrato che nelle prime 72 ore dall'inizio del taglio, l'attività catalasica registrata all'apparecchio è inversamente proporzionale all'intensità respiratoria e di conseguenza all'attività ossidasica nonchè al contenuto in acido ascorbico. Con una serie di ricerche si è cercato di chiarire il comportamento del complesso acido ascorbico-catalasi.

3) L'attività ossidasica appare essere direttamente proporzionale nelle prime 72 ore all'intensità respiratoria. Studiando le deidrasi ossitrope nel tubero di *Solanum tuberosum* si è giunti alla conclusione che esse sono del tipo polifenolossidasi.

4) Per quanto concerne il glutatione si è giunti alla constatazione che mentre il totale si mantiene quasi costante, il ridotto tende a diminuire e logicamente l'ossidato ad aumentare.

SUMMARY

VARIATIONS IN GLUTATHIONE AND ASCORBIC ACID CONTENT, CATALASE AND OXIDASE ACTIVITIES DURING THE PHYTOCICATRIZATION PROCESS

by Luciano Tombesi and Matilde Tarantola

The object of this paper is to study the correlations existing between respiratory intensity and oxidase, catalase, reduced/oxidated glutathione and ascorbic acid content, during the cicatrization process of *Solanum tuberosum* tubers.

The experimental results concerning biochemical metabolism of newly formed tissues make it possible to draw the following conclusions: —

(1) Respiratory intensity shows a maximum 24 hours after the tuber cut, after which it greatly decreases.

As soon as the tuber is cut, respiratory activity of the tissues quickly increases, in such a manner as to surpass 4-5 times the value of the whole tuber.

(2) Catalase content observed in the course of the process greatly varies in different cases; this variation is probably due to the fact that the two series of tuber possess a different degree of ripeness.

The authors showed that during the first 72 hours after the tuber is cut the catalase activity recorded by the apparatus is in indirect proportion to the respiratory intensity and consequently to the oxidase activity and ascorbic acid content.

With a series of researches an effort was made to explain the behaviour of the ascorbic acid-catalase complex.

(3) Oxidase activity seems to be in direct proportion with respiratory intensity during the first 72 hours.

After some studies the authors concluded that *S. tuberosum* oxidase is of type polyphenoloxidase.

(4) While the total amount of red/ox. glutathione is constant, the reduced form shows a tendency to decrease and then the oxidated form to increase.

BIBLIOGRAFIA

(1) Tombesi, L. Fotosintesi, quoziente respiratorio, traspirazione, attività catalasica ed ossidasica di alcune specie vegetali in rapporto alle disponibilità idriche del suolo. Nota I e II. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV, num. 4.

Contenuto in glutatione ed acido ascorbico ed attività ossidasica e catalasica in funzione delle disponibilità idriche del suolo, su foglie di *Nicotiana tabacum* var. « Virginia Bright » durante il ciclo vegetativo e la cura. *Il Tabacco,* 1951, n. 619.

(2) Tombesi, L. Respirazione e attività ossidasica e catalasica durante i processi di cicatrizzazione su tuberi sani e malati di *Solanum tuberosum. Annali della Sperimentazione Agraria,* 1949, n. s., vol. III, num. 5.

(3) Tombesi, L., Tarantola, M., Fortini, S., e Venezian, M. E. Attività catalasica ed energia critica su semi provenienti da piante a diverso regime idrico. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1950, n. s., vol. IV, num. 5.

(4) Drouineau, G., et Gouny, P. Contribution à l'étude de la catalase des tissus foliaires. *Annales Agronomiques,* 1946, 16e année, n° 1.

(5) Tombesi, L. Variazioni diurne del contenuto in acido ascorbico e glutatione ridotto e dell'attività ossidasica e catalasica su tessuti fogliari. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1951, n. s., vol. V.

(6) Tombesi, L. Contenuto in glutatione, ecc.: cfr. (1).

Ricevuto il 24 settembre 1951.

STAZIONE AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

Salvatore Del Gaudio

RICERCHE SULLA BIOLOGIA DELLA TRIGONELLA

Premessa

La trigonella o fieno greco (*Trigonella foenum-graecum* L.) è una pianta poco nota dal punto di vista della sua biologia; è quindi necessario che la si conosca bene se si vuole — analogamente a quanto è successo per *Lupinus luteus* e *L. angustifolius* — migliorarla, onde abolire o almeno diminuire gli inconvenienti dovuti alla presenza, negli organi della pianta, della trigonellina e della cumarina.

Mentre si rinvia il lettore a una precedente pubblicazione su questa foraggera *, qui si intende aggiungere quanto ivi non è stato detto, ciò che rappresenta il risultato di una prima sperimentazione condotta nel 1949-50 presso la Stazione agraria sperimentale di Bari.

Parte sperimentale

Lo studio della trigonella è stato iniziato e condotto, nel 1949-50, su 25 lotti di 20 semi ciascuno, ottenuti da una coltura che avevo nel 1948-49, nel podere « Balbiani » della Stazione.

Il 28 novembre, i 500 semi sono stati seminati in capsule Petri. Trascorse 144 ore, il coefficiente di germinazione e l'energia media germinativa hanno dato i valori riportati nella tabella I.

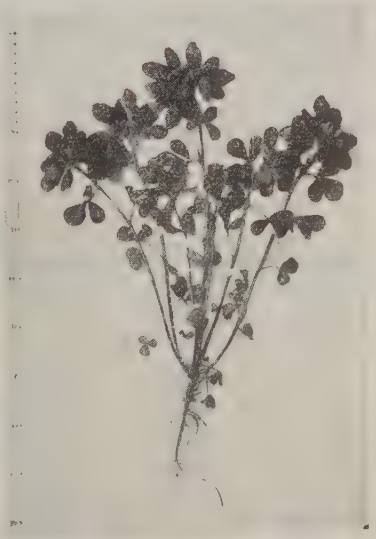


Fig. 1. – Pianta di trigonella (*Trigonella foenum-graecum* L.)

* Del Gaudio, S. Il Fieno greco (*Trigonella foenum-graecum* L.). *L'Italia Agricola*, 1951.

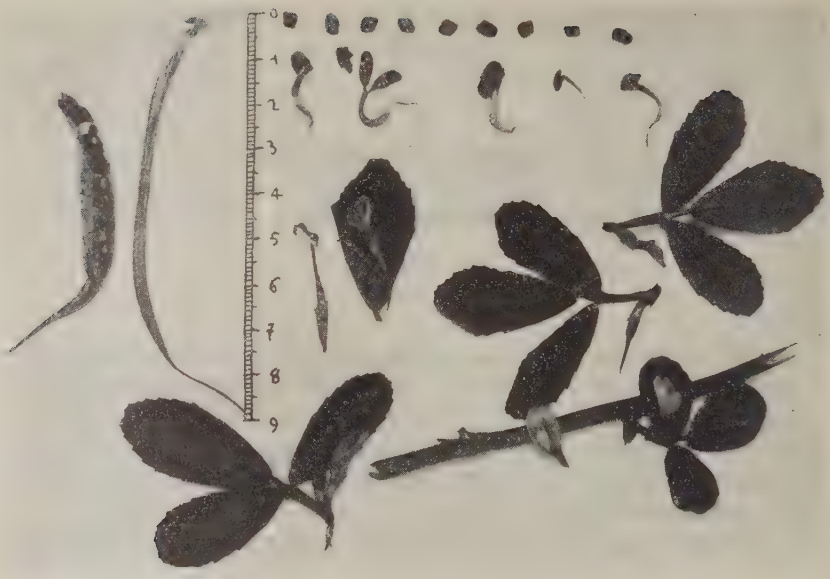


FIG. 2.

Semi di trigonella (prima fila).

Semi germinati di 12 giorni: plantula con le foglie cotiledonari e accanto ad essa il tegumento del seme (la seconda della seconda fila).

Foglie composte: *a*) pagina inferiore con fiore secco (in alto a destra); *b*) pagina superiore con piccolo baccello.

Foglia con fiori geminati di cui quello a sinistra è più secco (in basso a sinistra).

Porzione di fusto con foglia e fiori.

Baccelli secchi, uno chiuso e uno aperto con semi.

Piccolo baccello fresco con corolla secca all'apice del rostro.

Fiore su porzione di fogliolina.

TABELLA I

Coefficiente
di germinazione ed energia media germinativa

Capsula n.	Coefficiente di germinazione %	Energia media germinativa giorni	Capsula n.	Coefficiente di germinazione %	Energia media germinativa giorni
1	100	3,65	14	95	4,15
2	90	3,44	15	80	4,00
3	95	4,10	16	100	2,35
4	100	4,00	17	100	2,40
5	100	3,90	18	100	2,30
6	90	3,88	19	95	3,10
7	100	3,55	20	60	3,66
8	100	3,75	21	55	3,54
9	100	3,85	22	95	2,10
10	100	4,00	23	100	3,15
11	95	4,00	24	95	3,31
12	90	3,88	25	100	3,75
13	100	4,05	Media	93	3,51

L'energia media germinativa dei semi di trigonella è quindi risultata di giorni tre e mezzo con oscillazioni estreme che vanno da 2 a 4 giorni, e con coefficiente di germinazione del 93 %. Le prove, condotte a temperatura ambiente di 12° C., hanno dato le seguenti percentuali giornaliere di germinazione:

1°	giorno	(29	novembre	1949)	germinazione	del	0 %	di semi
2°	»	(30	»	»	»	»	8,56 %	di »
3°	»	(1°	dicembre	»	»	»	38,54 %	di »
4°	»	(2	»	»	»	»	43,68 %	di »
5°	»	(3	»	»	»	»	8,78 %	di »
6°	»	(4	»	»	»	»	0,42 %	di »

Dal grafico I si rileva che la massima parte dei semi (82 %) è germinata tra il terzo e il quarto giorno.

Grafico I

Percentuali giornaliere di germinazione

I semi germinati sono stati seminati in un cassone di cemento, sopraelevato *, suddiviso in 25 sezioni. Il primo seme germinato di ciascun lotto, è stato seminato in vaso da fiore, drenato, riempito di terriccio **. I 25 vasi sono stati tenuti in laboratorio fino alla plantulazione, poi sono stati portati in pieno campo e interrati per 2/3 della loro altezza, fino alla fruttificazione delle piante.

Nei vasi, le plantule spuntarono quasi tutte il 6 dicembre; in cassone invece esse spuntarono, nella maggior parte, l'11 dicembre, cioè con 5 giorni di ritardo. La differenza a vantaggio delle prove in laboratorio è dovuto alla maggiore somma termica quivi registrata rispetto alla temperatura esterna ***, e più che alla somma termica (o somma delle calorie) la differenza è dovuta alla minore ampiezza dell'escursione termica diurna in laboratorio rispetto a quella esterna ****.

Non tutti i semi germinati affidati al terreno hanno dato le rispettive plantule; la nascita nel cassone ha infatti avuto questa percentuale:

Tabella II

Percentuale di plantule nate da 20 semi originari

Sezione n.	Plantule nate %	Sezione n.	Plantule nate %	Sezione n.	Plantule nate %
1	65	9	80	17	85
2	80	10	85	18	90
3	80	11	70	19	15
4	45	12	90	20	5
5	75	13	70	21	85
6	90	14	55	22	90
7	90	15	85	23	55
8	90	16	95	24	30
				Media	70

* Il cassone misura: m. 3,60 di circonferenza esterna; m. 0,50 di altezza; m. 1 di diametro interno; m. 1,15 di diametro esterno; dmq. 78,50 di superficie.

** L'analisi fisico-chimica del terriccio ha dato questi valori: sabbia 16,50 %; limo 14,70 %; argilla 35,50 %; calcare 27 %; sostanza organica 6,3 %; azoto 4,3 ‰; fosforo 3,4 ‰; potassio 9,4 ‰.

*** Dal 2 al 6 dicembre (periodo della plantulazione, in laboratorio), è stata registrata una somma termica di 60° C. in laboratorio. Invece in pieno campo si è avuta, nello stesso periodo, una somma termica di 54°,9 C. Nel periodo 2-11 dicembre (periodo della plantulazione, in pieno campo) è stata registrata in laboratorio una somma termica di 127°,5 C. e all'aperto 116° C. La differenza da 5°,1 a 11°,5 C. in più in laboratorio ha determinato una più rapida plantulazione in laboratorio che in pieno campo.

**** Nel periodo 2-6 dicembre, in laboratorio è stata registrata una escursione termica media di 0°,4 C. mentre in pieno campo è stata di 1°,9 C.

Nel periodo 2-11 dicembre, in laboratorio si è avuta una escursione termica media di 0°,2 C. mentre in pieno campo è stata di 1°,0 C.

I dati termici sono stati forniti dall'Osservatorio meteorologico della Stazione agraria sperimentale di Bari.

La media di 24 ripetizioni ha dato quindi una plantulazione del 70 % rispetto ai semi originari, con una perdita del 30 % di piantine. Rispetto ai semi germinati, la plantulazione ha raggiunto il 75 %, con una perdita del 25 % di piantine.

Ricerche eseguite sulle piantine allevate in vaso hanno permesso di seguire l'accrescimento in lunghezza e in larghezza delle foglie cotiledonari. Le misurazioni decadiche hanno dato i seguenti valori medi:

Tabella III

Accrescimento delle foglie cotiledonari

	Dicembre		Gennaio			Febbraio			Marzo
	17	27	6	16	26	5	15	25	7
	cm.	cm.	cm.	cm.	cm.	cm.	cm.	cm.	cm.
Lunghezza . .	1,66	1,81	1,94	2,03	2,06	2,10	2,13	2,13	2,13
Larghezza . .	0,72	0,82	0,86	0,89	0,91	0,93	0,94	0,94	0,94

Nel periodo 17 dicembre-7 marzo, l'accrescimento in lunghezza e larghezza delle foglie cotiledonari, ha accusato incrementi decrescenti, fino all'arresto dell'accrescimento stesso.

Dal grafico II si rileva che il valore degli incrementi decresce, ogni 10 giorni (a partire dal 17 dicembre fino al 15 febbraio), rispettivamente di mm. 1,5, 1,3, 0,9, 0,3, 0,4, 0,3, e poi si arresta definitivamente dal 60° giorno in poi.

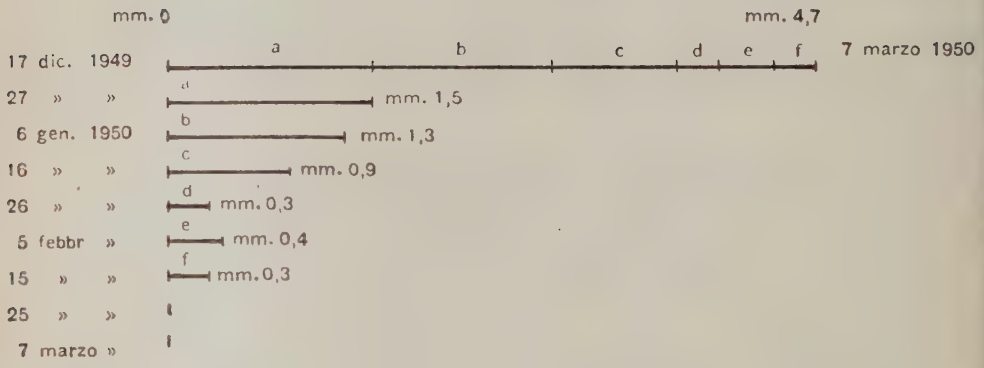
Analogo è risultato il comportamento dell'accrescimento in larghezza delle foglie cotiledonari.

Il grafico III mostra che gli incrementi decrescono — nei primi sessanta giorni — in misura di mm. 1,0, 0,4, 0,3, 0,2, 0,2, 0,1. Dal 60° giorno in poi l'accrescimento si arresta definitivamente.

Proseguendo nelle osservazioni, si è notato che, dopo 11 giorni circa dalla nascita della plantula, è spuntata una fogliolina semplice, meno ovoidale delle foglie cotiledonari, più corta e rotondeggiante. Trascorsi altri 30 giorni, nasce la prima foglia composta (trifogliata) a 180° angolari dalla fogliolina semplice. Dal punto di vista della fillotassi, le foglie composte spuntano con successivi spostamenti angolari di 90°; accorciandosi la lunghezza degli internodi verso l'apice, anche l'angolo diminuisce.

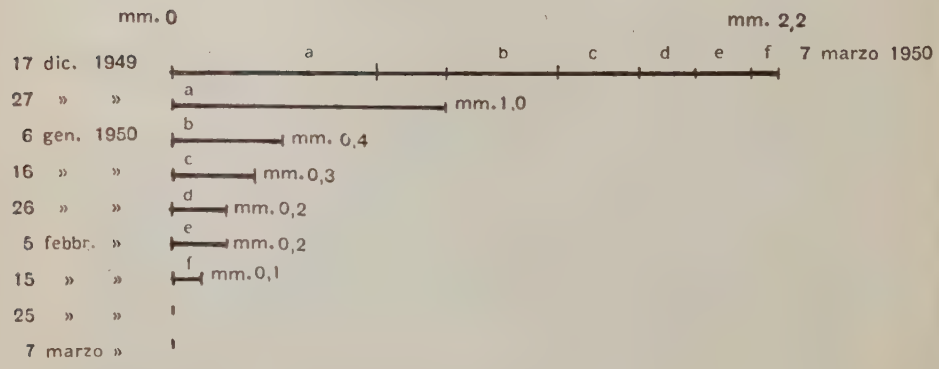
Le foglie composte aumentano di numero in un periodo di 90-100 giorni a partire dalla nascita della prima foglia composta, poi cominciano a seccarsi.

Grafico II



Incremento decadico (lunghezza delle foglie cotiledonari)

Grafico III



Incremento decadico (larghezza delle foglie cotiledonari)

Il conteggio delle foglie composte ha dato, in tutto il periodo dell'accrescimento durano 3 mesi e mezzo circa, i seguenti risultati:

Tabella IV

Numero medio di foglie composte, per singole piante

Osservazioni fatte in	Gennaio		Febbraio			Marzo			Aprile			Maggio
	16	26	5	15	25	7	17	27	6	16	26	6
piena terra: n. delle foglie	1	1	2	4	7	12	17	24	32	38	46	44
vaso: n. delle foglie . .	1	2	4	7	9	17	25	34	43	48	47	40

L'emissione delle foglie composte è terminata il 26 aprile. Si osserva che nel periodo 26 aprile-6 maggio il numero delle foglie composte è in diminuzione, perchè l'arresto della nuova fogliazione è stata accompagnata dalla perdita di foglie per essiccamento. Questo fenomeno è risultato ancor più evidente nelle prove in vasi. In questi è stato inoltre constatato un anticipo di 10 giorni — rispetto alle prove in cassone — tanto nell'iniziale incremento fogliare (26 gennaio, anzichè il 5 febbraio), quanto in quello finale (terminato il 16 aprile, anzichè il 26 aprile).

Nel periodo 13 marzo-12 maggio, sono state eseguite misurazioni quindicinali sull'accrescimento in altezza della pianta. Si è avuto modo di conoscere che gli incrementi in centimetri sono i seguenti:

Tabella V

Accrescimento medio in altezza delle piante

Marzo		Aprile		Maggio
13	28	12	27	12
cm.	cm.	cm.	cm.	cm.
15,6	22,6	29,2	35,1	38,6

Nel periodo 13 marzo-12 maggio, gli incrementi quindicinali si attenuano in ragione progressiva di cm. 7, 6,6, 5,9, 3,5.

Lo sviluppo dei varî organi della pianta è stato misurato in 5 periodi quindicinali successivi di vegetazione, fino all'arresto dell'accrescimento. Sono così risultati i valori che si riassumono nella seguente tabella:

Tabella VI

Valori medî degli organi di trigonella in varie epoche (anno 1950)

Organo esaminato	13-III	28-III	12-IV	27-IV	17-V	Osservazioni sugli incrementi
Fittone spessore mm. . . .	0,78	1,31	1,42	1,87	2,23	mm.: 0,53–0,11–0,45–0,36
Fusto spessore mm.	2,02	2,36	2,64	2,71	2,71	mm.: 0,34–0,28–0,07
Fusto lunghezza cm. . . .	17,0	23,3	30,1	38,0	43,9	cm.: 6,3–6,8–7,9–5,9
Foglioline lunghezza cm. .	1,70	2,00	2,20	2,50	2,80	cm.: 0,30–0,20–0,30–0,30
Foglioline larghezza cm. .	1,20	1,40	1,40	1,40	1,40	cm.: 0,20
Fiori n.	0	4	9	9	9	n.: 5
Baccelli n.	0	0	5	7	9	n.: 2–2
Semi n. medio per baccello	0	0	0	15	15	n.: costante
Peso medio per pianta (gr.)						
Sostanza secca %	—	20,66	27,09	26,64	33,48	%: 6,43–(–0,45)–6,84
Azoto totale %	—	4,37	3,36	2,57	2,57	%: 1,01–0,79
Azoto proteico	—	27,31	21,00	16,06	16,06	%: 6,31–4,84

L'abbassamento percentuale della sostanza secca, nel periodo 12-27 aprile, è motivato dal fatto che la pioggia caduta nel detto periodo è stata più abbondante di quella precipitata nel periodo precedente al 12 aprile, e precisamente:

dal 13 marzo 1950 al 28 marzo : litri 0,54 di acqua *
dal 28 » 1950 al 12 aprile : » 3,36 »
dal 12 aprile 1950 al 27 » : » 17,11 »
dal 27 » 1950 al 17 maggio: » 1,57 »

Dove si vede che la maggiore quantità di pioggia ha determinato la maggiore ricchezza d'acqua nelle piante verdi, per cui la sostanza secca — che viene riferita al peso verde — ha subìto un leggero abbassamento percentuale di 27-26,64 = 0,45 %. Viceversa la scarsezza d'acqua, nel periodo successivo (27 aprile-17 maggio), ha elevato la percentuale della sostanza secca di 33,48-26,64 = 6,84 %.

La somma delle calorie o somma termica della trigonella è risultata (dal 28 novembre 1949 al 17 maggio 1950) di 1964°,9.

* La quantità d'acqua precipitata si riferisce alla superficie del cassone, cioè mq. 0,7850.

L'escursione termica diurna media è invece risultata:

dal 28 al 30	novembre	1949	uguale a 5°,9
nel mese di	dicembre	»	» 7°,7
»	gennaio	1950	» 6°,7
»	febbraio	»	» 9°,6
»	marzo	»	» 12°,3
»	aprile	»	» 13°,5
fino al 17	maggio	»	» 12°,9

Misurazioni accurate, condotte su 100 baccelli, hanno fornito i valori che qui di seguito si riportano:

lunghezza del baccello (parte seminale)	cm. 7,76
» del rostro	» 3,01
» del baccello + rostro	» 10,77
numero dei semi per baccello	n. 13
lunghezza del seme	mm. 4,07
larghezza del seme	» 3,26
peso di 100 semi provenienti da baccelli apicali	gr. 16,00
» di 100 semi provenienti da baccelli mediani	» 19,10
» di 100 semi provenienti da baccelli basali	» 18,00
» del seme rispetto al baccello (secco)	67 %

Sulla fioritura riferirò in altro lavoro; qui accenno che essa è avvenuta nel periodo 18 marzo-20 aprile 1950 in forma abbondante, ma con allegamento piuttosto scarso.

Conclusioni

Rimandando il lettore a quanto è stato scritto in una precedente pubblicazione *, qui si è inteso aggiungere — con indagini dirette — altre conoscenze relative alla biologia della trigonella.

Così si è osservato:

1) che il seme di trigonella ha accusato una energia media germinativa di giorni 3,51 con un coefficiente di germinazione del 93 %;

2) che le foglie cotiledonari si sono arrestate, nel loro accrescimento, entro la prima decade di marzo con valori pari a cm. 2,13 (lunghezza) × cm. 0,94 (larghezza);

3) che l'emissione delle foglie composte (trifogliate) è cessato nel periodo aprile-maggio con un numero massimo di 48 foglie;

---

* Del Gaudio, S. Lav. cit.

4) che lo sviluppo in altezza delle piante termina verso la metà di maggio, con un massimo di altezza inferiore al mezzo metro;

5) quanto sopra si è verificato nell'ambiente barese, caldo-arido, con una somma di precipitazione (dal 28 novembre 1949 al 17 maggio 1950) di mm. 247,3 per ha., con una somma termica di 1964°,9 C. e con escursione termica diurna media di 9°,8 C.

RIASSUNTO

L'A. espone i primi risultati d'una sperimentazione sulla biologia della *Trigonella foenum-graecum* L., condotta nel 1949-50 presso la Stazione agraria sperimentale di Bari. Tali risultati si riferiscono al seme, alle foglie cotiledonari, alle foglie composte e all'accrescimento della pianta, in funzione delle precipitazioni atmosferiche e della temperatura locale.

SUMMARY

RESEARCHES ON THE BIOLOGY OF THE FENUGREEK

by Salvatore Del Gaudio

The first results are given of an experiment on the biology of *Trigonella foenum-graecum* L., conducted in 1949-50 at the Stazione agraria sperimentale at Bari. These results concern the seeds, the cotyledons, the compound leaves and the growth of the plant, as related to the atmospheric precipitation and the local temperature.

Ricevuto il 25 settembre 1951.

ISTITUTO DI COLTIVAZIONI ARBOREE
(Direttore: Alessandro Morettini)
FIRENZE

Franco Scaramuzzi

LE BASI ISTOGENETICHE DELL'INNESTO "AD OCCHIO"

RICERCHE SUL PESCO *

Premessa

Intorno alla pratica dell'innesto esiste oggi una vasta letteratura che comprende tutto il graduale susseguirsi delle nuove acquisizioni tecniche e scientifiche su questo metodo di propagazione. Solo in tempi molto recenti, tuttavia, allo studio dell'innesto è stata data la necessaria impostazione scientifica, conseguente al delinearsi di sempre nuovi ed impensati sviluppi delle sue applicazioni e dei suoi perfezionamenti tecnici.

Attualmente uno dei più complessi ed importanti problemi della moderna frutticoltura è rappresentato, appunto, dallo studio delle reciproche influenze esistenti tra portainnesto e oggetto, onde dedurne le direttive migliori per raggiungere i più soddisfacenti risultati produttivi.

Numerose sono già le indagini svolte in questo senso, con metodi diversi, nei principali Paesi frutticoli. Le cause determinanti tali influenze sono state attribuite, molto spesso, oltre che a squilibri « fisiologici » fra i due bionti, a particolari strutture « anatomiche » del soggetto o del nesto ed anche alla tecnica stessa del tipo di innesto adottato.

Nonostante ciò, esaminando la letteratura in merito, non si possono non rilevare le grandi lacune esistenti nel quadro delle attuali conoscenze sulle basi istologiche ed istogenetiche che regolano il normale processo di saldatura degli innesti. Le indagini finora svolte su tale argomento si riferiscono solo a determinati tipi di innesto e sono state generalmente condotte su una o poche specie, molto spesso, per giunta, erbacee. Appare evidente, pertanto, la necessità di sviluppare opportunamente tali ricerche, soprattutto estendendole alle piante arboree da frutto per le quali la tecnica dell'innesto riveste tanta fondamentale importanza.

Nella presente nota riporto i risultati di alcune indagini che ho ritenuto opportuno condurre, in base alle suddette considerazioni, sulla re-

* Ricerche eseguite mercè una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

golare istogenesi dell'innesto « ad occhio ». Tale tipo di innesto è oggi, appunto, il più conosciuto ed il più diffusamente adottato nella moltiplicazione agamica delle principali specie frutticole. Per contro, le uniche notizie di cui disponiamo sulle basi istogenetiche di detto innesto, applicato alle piante arboree da frutto, sono costituite dalle ricerche condotte sugli agrumi dal Mendel (1935), presso la Stazione Sperimentale di Rehovot in Palestina. Quest'autore ha descritto il processo di saldatura di alcuni innesti « ad occhio » effettuati su *Citrus aurantifolia* Swingle var. *dulcis* e *C. Aurantium* L. I risultati di tali ricerche, peraltro, come lo stesso autore ha tenuto a precisare, non possono essere generalizzati *a priori;* tanto più che le suddette specie presentano caratteristiche fondamentalmente diverse dalle comuni piante arboree da frutto a foglia caduca.

Ho scelto il pesco quale oggetto di studio nelle presenti indagini poichè ho ritenuto che per questa specie, in cui l'innesto « ad occhio » viene più frequentemente e vantaggiosamente applicato con i migliori risultati, il processo di saldatura dei due bionti possa essere considerato come normale e possa servire, quindi, quale base per ogni eventuale utile confronto con quello di altre specie.

Tecnica dell'innesto « ad occhio »

Prima ancora di riferire sulle indagini svolte ritengo opportuno soffermarmi ad illustrare, nelle sue linee essenziali, la tecnica dell'innesto « ad occhio », così come esso viene comunemente praticato per le diverse specie frutticole. In seguito, infatti, sarà spesso necessario richiamarsi ad alcuni aspetti di tale tecnica le cui particolari descrizioni, effettuate di volta in volta, renderebbero meno agevole la esposizione e la interpretazione dei risultati.

Per la preparazione del « nesto », sulle marze opportunamente prescelte si praticano due leggere intaccature orizzontali al disopra ed al disotto della gemma che si intende prelevare per l'innesto, e ad uguale distanza da essa (circa cm. 1-1,5). Cominciando, quindi, un po' al disotto della intaccatura inferiore, si effettua un taglio, passando con la lama sotto la gemma, fino a raggiungere l'intaccatura superiore. La gemma verrà così a distaccarsi insieme ad una porzione di corteccia avente forma di « scudo » (fig. 2). In pratica, molto spesso, non vengono eseguite le due preliminari intaccature sopra e sotto la gemma; comunque si operi, però, quest'ultima viene sempre a trovarsi inserita su una porzione di corteccia più o meno a forma di scudo (vedi anche fig. 1-*a*).

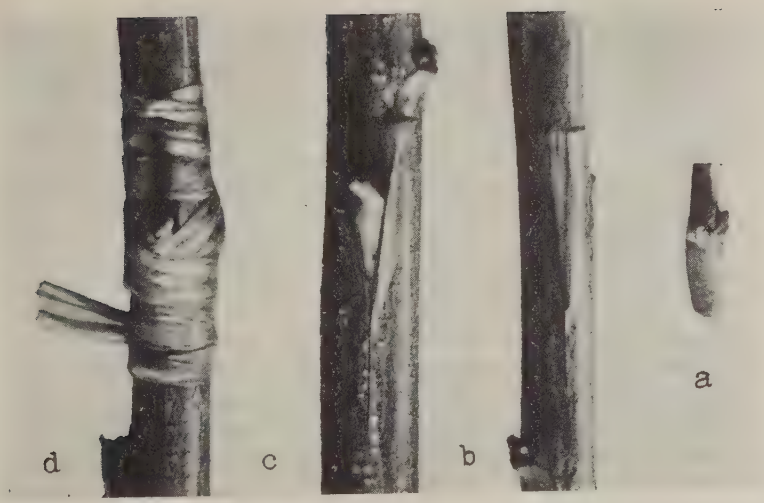


Fig. 1. – Principali fasi dell'operazione d'innesto « ad occhio »: *a*) « scudo »; *b*) taglio a T sul soggetto e sollevamento della corteccia; *c*) sistemazione dello scudo fra i due lembi della corteccia; *d*) legatura con rafia (grandezza naturale). (Foto dell'A.)

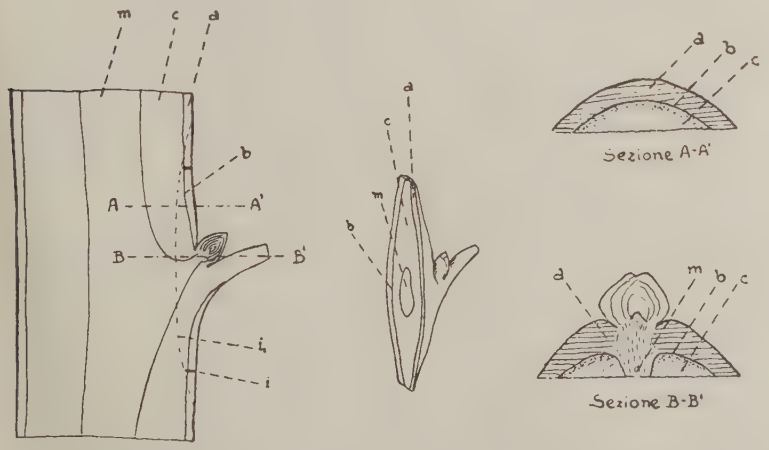


Fig. 2. – Rappresentazione schematica dei tessuti costituenti lo scudo, così come esso viene comunemente prelevato dalla marza: *m* midollo; *c* legno; *a* corteccia; *b* cambio; *i* intaccature effettuate sopra e sotto la gemma; i_1 linea di taglio per la asportazione dello scudo.

In realtà, oltre alla corteccia, viene asportata generalmente anche una porzione di legno al disotto ed in corrispondenza della gemma. Tale porzione legnosa può anche essere eliminata al momento dell'innesto staccandola dalla corteccia; in pratica, comunque, viene quasi sempre conservata, giacchè la suddetta operazione, oltre a richiedere più tempo, può provocare gravi danni alla gemma pregiudicandone la vitalità.

Sul « soggetto » si praticano, fino alla zona generatrice, due leggere incisioni: una orizzontale (lunga cm. 1-1,5) e l'altra verticale (lunga cm. 2 o 3). Nel complesso le due incisioni vengono a formare una T, in qualche particolare caso opportunamente rovesciata (⊥). Con una spatola di legno duro, d'osso o di metallo (i coltelli da innesto ne sono ordinariamente forniti) si sollevano i due lembi della corteccia * (fig. 1-*b*) e fra questi si inserisce lo scudo in modo che esso rimanga coperto dalla corteccia stessa, tranne la gemma che deve restare scoperta (fig. 1-*c*). Si lega infine l'innesto con rafia, od altro materiale adatto, cercando di ottenere un perfetto combaciamento dei tessuti dei due bionti (fig. 1-*d*).

In genere, dopo circa 20 giorni dalla esecuzione dell'innesto si può provvedere a togliere la legatura ed è già possibile constatare se l'attecchimento è avvenuto.

Bisogna sottolineare che per l'esecuzione dell'innesto « ad occhio » è indispensabile che la corteccia del soggetto sia facilmente distaccabile dell'alburno, ossia, come si dice in pratica, che la pianta « sia in succhio » o « dia la buccia ». Tale distacco della corteccia è possibile solo nel periodo di attività cambiale e, pertanto, l'innesto « ad occhio » non può essere effettuato durante il periodo di riposo delle piante, ma solo dall'inizio della vegetazione, in primavera, fino al successivo autunno.

I criteri di scelta dell'epoca più opportuna in cui eseguire tale innesto sono numerosi e diversificano sopra tutto in funzione della specie da innestare e del portainnesto adottato. Gli innesti eseguiti durante la primavera e l'inizio dell'estate vegetano generalmente subito e riescono a formare, fino all'autunno, un getto di una certa lunghezza. Tali innesti si dicono « a gemma vegetante » in contrapposto a quelli eseguiti nell'estate-autunno, le cui gemme restano ferme fino alla primavera successiva, che sono definiti, invece, « a gemma dormiente ». In realtà, non è agevole individuare da quale periodo in poi gli innesti restino « dor-

* È bene precisare che il termine di « corteccia », così come viene comunemente adottato in pratica, sta qui ad indicare globalmente tutti i tessuti posti all'esterno del cambio.

mienti » variando esso in funzione di numerosi fattori, soprattutto ambientali, e potendo essere fortemente influenzato dalle pratiche colturali (irrigazione, potatura, ecc.).

Il più diffuso ed il più conosciuto tra questi due tipi è l'innesto « ad occhio dormiente » che presenta il ben noto vantaggio di una sollecita ripresa vegetativa primaverile della gemma innestata, consentendo di ottenere astoni di un anno più sviluppati.

La tecnica d'innesto sopra descritta non varia, comunque, in nessun caso. Solo va precisato che per poter effettuare gli innesti « a gemma vegetante » in primavera, occorrerà aver provveduto a raccogliere e conservare opportunamente le marze già qualche tempo prima della ripresa vegetativa; prima, cioè, che le gemme comincino a schiudersi. Per quelli a « gemma dormiente », invece, le marze possono essere prelevate dalla pianta madre al momento stesso dell'innesto. In questo secondo caso si rende necessario, però, asportare dalle marze il lembo ed una parte del picciolo delle foglie *.

Materiale e metodo di indagine

Ho già riferito sulle ragioni che mi hanno spinto a scegliere il pesco come soggetto di studio nelle presenti indagini.

Prima di ogni altra cosa ho ritenuto opportuno procedere ad un preliminare esame della disposizione che i singoli tessuti dei due bionti vengono reciprocamente ad assumere con la pratica dell'innesto ad occhio. Ciò allo scopo di stabilire, innanzi tutto, fino a che punto ed in quale maniera fosse rispettata la condizione, considerata dai diversi autori come fondamentale ed indispensabile per la riuscita di qualsiasi tipo di innesto, che i tessuti omologhi dei due simbionti combacino fra loro. Ho inteso così accertare: 1) quali tessuti vengano prelevati dalla marza insieme alla gemma da innestare; 2) in quale zona del soggetto si determini il distacco della corteccia dall'alburno. A questo scopo ho prelevato alcuni scudi, così come venivano praparati in pratica, con e senza la porzione di tessuto legnoso alla loro base. Per il soggetto, invece, ho prelevato dei campioni di alburno e di corteccia in epoche successive, così come normalmente venivano a distaccarsi fra loro durante l'operazione d'innesto.

* Parte del picciolo della foglia, alla cui ascella trovasi la gemma da innestare, viene conservato allo scopo di poter meglio maneggiare lo scudo ed anche perchè esso serve quale indice dell'attecchimento. Negli innesti attecchiti, infatti, esso, dopo un certo tempo, si distaccherà normalmente alla sua base, in seguito alla formazione di un tessuto meccanico separatore; in quelli non attecchiti, invece, esso si dissecchera rimanendo attaccato allo scudo.

Per l'esame del processo istogenetico di saldatura fra soggetto e scudo ho eseguito, nel vivaio dell'azienda sperimentale di questo Istituto, una serie di innesti « ad occhio » su piantine di un anno provenienti da seme di peschi selvatici. Allo scopo di poter individuare l'influenza esercitata dalla porzione di tessuto legnoso che, in pratica, viene generalmente lasciata sotto gli scudi, ho praticato tre diversi tipi di innesto: 1) adottando scudi « con legno », ossia normalmente provvisti della porzione legnosa alla loro base; 2) adottando scudi « senza legno », dai quali, cioè, la suddetta porzione legnosa era stata preliminarmente asportata; 3) inserendo fra i lembi della corteccia del soggetto, anzichè scudi normali, un pezzetto di sughero o di paraffina appositamente modellato così da riprodurre la forma di uno scudo. Questi ultimi sono stati eseguiti allo scopo di studiare il comportamento istogenetico del soggetto nel processo di cicatrizzazione della ferita d'innesto, indipendentemente da ogni influenza, escluso quella meccanica, esercitata dai tessuti dello scudo.

I due primi tipi di innesto sono stati praticati scalarmente ogni 10 giorni su sette gruppi di piante, a partire dal 20 giugno fino al 30 agosto. A distanza di 1-2-3-4-5-10 giorni e di 1-2-3 e più mesi rispettivamente dalla loro esecuzione, ho raccolto alcuni campioni di tali innesti per l'esame dei diversi stadi del processo istogenetico di saldatura dei due bionti.

Gli innesti, per così dire, del terzo tipo sono stati eseguiti solo il 20 agosto, su un gruppo di 18 piante; essi sono stati, quindi, raccolti scalarmente dopo 1-2-3-4-5 e 10 giorni dalla loro esecuzione.

Tutto il materiale raccolto è stato fissato in formalina al 10 %, sezionato a mano o con microtomo a legno; le sezioni sono state colorate con ematossilina Delafield e safranina, disidratate e, quindi, chiuse in balsamo.

Rilievi sulla disposizione reciproca dei tessuti del soggetto e dello scudo nell'innesto « ad occhio »

Qui di seguito riferisco sui risultati delle indagini che ho inteso preliminarmente svolgere per determinare quali tessuti del soggetto e dello scudo vengano reciprocamente a contatto con la pratica dell'innesto « ad occhio ». Ho ritenuto opportuno descrivere separatamente la struttura istologica di ciascuno dei due bionti, così come vengono preparati in pratica, e quindi la disposizione reciproca che i diversi tessuti vengono ad assumere con l'esecuzione dell'innesto.

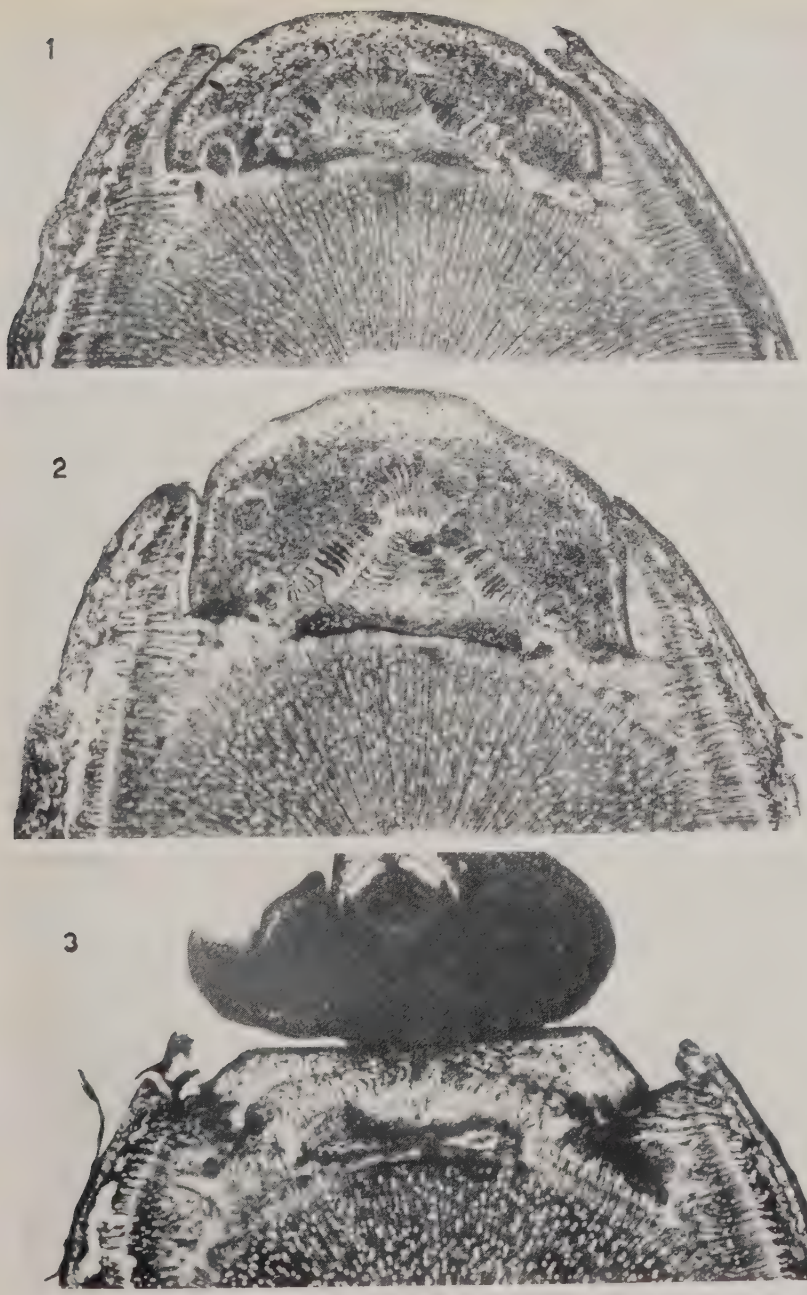


FIG. 1. – Sezione trasversale di un innesto «ad occhio» eseguito su pesco da seme di un anno, mediante scudo «con legno». L'innesto è stato eseguito il 10 agosto e raccolto il 1° settembre. La sezione riprodotta è stata eseguita sotto l'inserzione della gemma. (Ingrand. × 15).

FIG. 2. – Sezione trasversale del medesimo innesto precedente, eseguita nel punto d'inserzione della gemma. (Ingrand. × 15).

FIG. 3. – Sezione trasversale del medesimo innesto precedente, eseguita sopra l'inserzione della gemma. (Ingrand. × 15).

a) Soggetto

L'esame dei campioni di corteccia e alburno periodicamente raccolti dai soggetti, così come in pratica si separano fra loro, ha mostrato che il distacco non avviene sempre lungo una unica linea. La zona di minor resistenza dei tessuti alla frattura è risultata una fascia tangenziale dello spessore di circa 8-10 cellule poste da un lato e dall'altro della linea generatrice cambiale. Più precisamente il distacco risulta avvenire tanto al livello della linea generatrice cambiale vera e propria, quanto al livello di quelle cellule, a questa prossime, che hanno già iniziato i primi processi di differenziazione, rispettivamente in tessuti corticali e legnosi, con l'allungamento dei diametri radiali.

Ciò è stato constatato, molto spesso, anche su un medesimo soggetto in cui la linea generatrice cambiale vera e propria può rimanere per un tratto aderente all'alburno e per l'altro aderente ai lembi della corteccia.

Tali osservazioni sono state ripetute sui campioni prelevati in epoche diverse, durante tutto il periodo in cui sono stati effettuati gli innesti, con identici risultati.

Ai fini pratici, quindi, si può concludere che lo scudo, una volta applicato al soggetto, viene a combaciare sempre, in tutte le sue parti, con un tessuto cambiale o, comunque, costituito da cellule capaci ancora di moltiplicarsi più o meno attivamente.

b) Scudo

Come già è stato riferito innanzi, le gemme da innestare vengono asportate dalla marza insieme con una porzione di corteccia a forma di scudo. In tale operazione viene generalmente intaccato anche l'alburno e, pertanto, alla base dello scudo, sotto ed in corrispondenza della gemma, verrà a trovarsi una porzione più o meno spessa di tessuto legnoso.

Nella fig. 2 ho riportato una schematica rappresentazione dei tessuti della marza che vengono a costituire lo scudo. La superficie di taglio di quest'ultimo risulta formata da 4 fasce elissoidali concentriche di tessuti diversi. La prima, più esterna, è rappresentata dalla corteccia, seguita in ordine dal cambio, dalla porzione di tessuto legnoso e, infine, al centro, dai tessuti conduttori di collegamento sia della gemma che della foglia ascellante.

In sezione trasversale (vedi anche tav. I, figg. 1, 2 e 3) lo scudo si presenta diversamente costituito a seconda che lo si esamini al livello della gemma, sotto o sopra di essa. Mentre al livello della gemma, ed anche per un tratto al disotto di essa, la porzione legnosa è attraversata dai tessuti conduttori che vanno alla gemma stessa ed al picciòlo della foglia,

nel tratto superiore, invece, essa risulta costituita unicamente da tessuto legnoso.

Si è precisato, però, che la porzione di tessuto legnoso può anche essere eliminata dallo scudo, staccandola con attenzione dalla corteccia. Tale distacco, così come si è detto per il soggetto, avviene nell'ambito della zona cambiale. Gli scudi così preparati presentano, quindi, nella loro parte posteriore, una fascia elissoidale esterna di tessuto corticale, una larga fascia di tessuto cambiale (che occupa la massima superficie) ed infine i tessuti conduttori di collegamento della gemma e del picciolo della foglia; questi ultimi per una superfice notevolmente ridotta rispetto a quella da essi occupata negli scudi con legno.

La fig. 3 rappresenta schematicamente, in sezione trasversale, la disposizione reciproca che i principali tessuti dei due bionti assumono nell'innesto « ad occhio » adottando scudi « con legno » e « senza legno ».

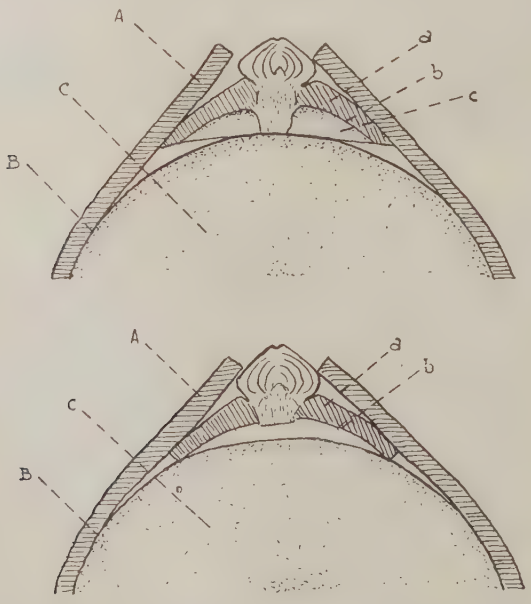


Fig. 3. – Rappresentazione schematica della sezione trasversale di un innesto « ad occhio », effettuata al livello della gemma.

A, *B* e *C* rispettivamente corteccia, cambio e legno del soggetto; *a*, *b* e *c* rispettivamente corteccia, cambio e legno dello scudo.

Sopra: scudo « con legno »; *sotto*: scudo « senza legno ».

Come si può chiaramente vedere da tale figura, la porzione legnosa dello scudo, quando non venga eliminata, tende a ridurre il contatto della zona cambiale dello scudo stesso con quella del soggetto semplicemente ad una più o meno stretta linea (vedi anche fig. 2). Si deve rilevare, inoltre, che tale porzione legnosa tende ad impedire alla linea cambiale dello scudo di aderire lateralmente al soggetto, essendo questo a superfice convessa e, quindi, ad aumentare i vuoti creati con l'innesto. Ciò tanto più quanto maggiore è lo spessore della porzione legnosa stessa.

Qualora, invece, agli scudi venga preliminarmente asportata la sottostante porzione legnosa, è evidente come il contatto fra le zone cambiali dei due bionti si estenda, praticamente, a quasi tutta la superfice di taglio degli scudi stessi.

Primi stadi del processo di cicatrizzazione

Le osservazioni sui primi stadi del processo di cicatrizzazione * sono state condotte sugli innesti eseguiti il 20 agosto e prelevati scalarmente a distanza di 1-2-3-4-5-10 giorni dalla loro esecuzione. Il 20 agosto, come precedentemente riferito, erano stati praticati contemporaneamente su ciascuna pianta tre tipi di innesto: uno adottando scudi « con legno », il secondo adottando scudi « senza legno » ed il terzo inserendo fra i lembi della corteccia del soggetto, anzichè scudi normali, un pezzetto di sughero o di paraffina appositamente modellato così da riprodurre la forma di uno scudo.

Qui di seguito riporto separatamente le osservazioni condotte su ciascuno dei suddetti tipi.

Devo premettere, però, che tali osservazioni non consentono di fissare con precisione il tempo che intercorre, in genere, fra l'esecuzione dell'innesto e le successive varie fasi della produzione dei tessuti di cicatrizzazione. Ho ripetutamente osservato, infatti, che spesso alcuni innesti possono presentare uno stadio del processo di cicatrizzazione meno avanzato rispetto a quello di altri innesti prelevati in precedenza. Ciò evidentemente a causa della diversa vigoria di ciascun soggetto, la quale al momento dell'innesto non può non influenzare la successiva produzione di nuovi tessuti.

---

* Il termine di « callo di cicatrizzazione » è stato ripetutamente adottato già da diversi autori, spesso anche con criteri diversi, per indicare i tessuti che vengono prodotti dai due bionti in seguito all'innesto. Nell'adottare anch'io tale termine ritengo opportuno far presente che i tessuti suddetti sono in realtà dei « tessuti di saldatura » e, pertanto, andrebbero opportunamente distinti dai tessuti di cicatrizzazione in genere.

Le osservazioni, inoltre, sono state condotte su un unico lotto di innesti eseguiti il 20 agosto, ossia circa nell'epoca in cui si suole generalmente applicare, in pratica, l'innesto ad occhio dormiente per il pesco. Non è possibile, pertanto, generalizzare i risultati ottenuti, anche perchè è da ritenere che una diversa epoca di innesto potrebbe diversamente influenzare la produzione dei tessuti di cicatrizzazione.

a) Innesti di scudi «con legno»

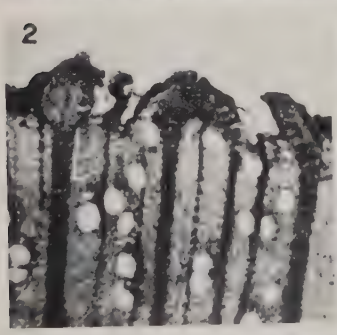
Già 24 ore dopo la loro esecuzione alcuni innesti hanno rilevato, in atto, una più o meno attiva moltiplicazione degli elementi più esterni delle superfici libere cambiali.

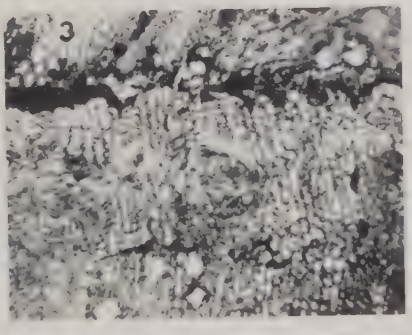
Le prime produzioni di tessuti di cicatrizzazione si hanno sempre ad opera del soggetto, mentre lo scudo resta fermo per più tempo, a volte per più di 5 giorni. Precisamente, sul soggetto si comincia sempre ad osservare la produzione di nuove cellule inizialmente nella zona in cui, con l'innesto, si è arrestato il distacco della corteccia dall'alburno. Successivamente tale produzione interessa tutta la superfice libera della ferita d'innesto, sia sul corpo legnoso centrale, che sul lato interno dei lembi della corteccia.

A questo proposito ho potuto rilevare che, dove il distacco fra alburno e corteccia era avvenuto normalmente a livello della zona cambiale, tutti gli elementi più esterni si riproducevano più o meno uniformemente lungo il corpo legnoso centrale e lungo i lembi della corteccia. In qualche tratto, invece, in cui il suddetto distacco era avvenuto fra la zona cambiale e gli elementi già differenziati della cerchia legnosa, ho potuto osservare che, mentre lungo i lembi della corteccia si aveva un'abbondante produzione di nuovi tessuti, a livello del corpo legnoso centrale tale produzione era spesso limitata all'attività degli elementi dei raggi parenchimatici (tav. II, fig. 2). Non mi è stato possibile incontrare alcun caso in cui il distacco fosse avvenuto fra la zona cambiale e gli elementi cribrosi.

Comunque, è da rilevare che in qualsiasi caso si ha sempre una produzione di nuovi tessuti, sia pure in misura variabile, tanto lungo la superfice esterna del corpo legnoso centrale, quanto lungo la superfice interna dei lembi della corteccia.

Fanno eccezione due zone della superfice esterna della cerchia legnosa: quella in cui si è eseguita l'incisione a T e, molto spesso, quella che si trova a diretto contatto con la parte più centrale dello scudo. Tali due zone, che teoricamente dovrebbero coincidere al centro dell'innesto, molto spesso sono invece discoste fra loro.





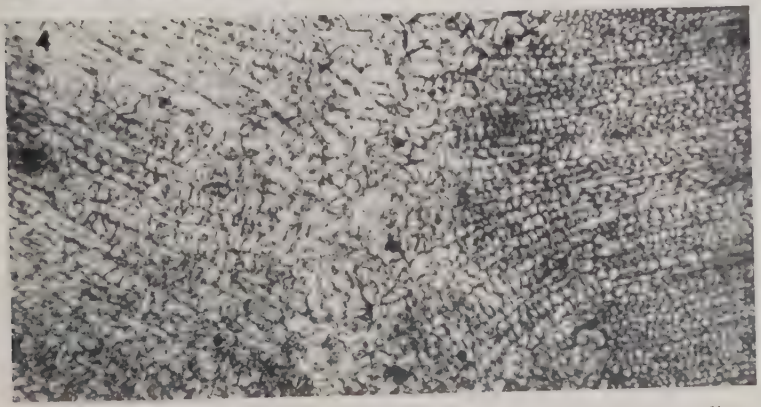


FIG. 1. – Sezione trasversale di un innesto « ad occhio » eseguito su pesco da seme di un anno mediante scudo « senza legno ». L'innesto è stato eseguito il 20 agosto e raccolto il 10 settembre. La sezione riprodotta è stata eseguita sotto l'inserzione della gemma, come quella della tav. I, fig. 1. (Ingrand. × 15).

FIG. 2. – Sezione trasversale del corpo legnoso centrale del soggetto, 3 giorni dopo l'esecuzione dell'innesto, in un tratto in cui la zona cambiale risulta essere rimasta completamente aderente ai lembi sollevati della corteccia. Si può chiaramente notare la moltiplicazione in atto degli elementi più esterni dei raggi paranchimatici. (Ingrand. × 70).

FIG. 3. – Sezione trasversale del tessuto parenchimatico di cicatrizzazione nel tratto posto fra il corpo legnoso centrale del soggetto (in basso) e la porzione legnosa dello scudo (in alto). Si nota la differenziazione in atto di alcuni noduli di tessuto di trasfusione. (Ingrand. × 70).

FIG. 4. – Sezione trasversale del tessuto parenchimatico di cicatrizzazione nel tratto compreso fra il corpo legnoso centrale (in basso) ed i lembi della corteccia (in alto) del soggetto. Si può rilevare la seriazione degli elementi parenchimatici ed il confluire di essi. (Ingrand. × 100).

La pressione esercitata sulla lama, nell'eseguire l'incisione a T della corteccia del soggetto, determina facilmente una incisione, più o meno profonda, anche della sottostante cerchia legnosa. Gli elementi della zona in tal modo lesa si necrotizzano rapidamente ed assumono un caratteristico colore bruno, mentre i vasi vengono occlusi da produzioni gommose. In corrispondenza di tale zona non si ha, da parte del soggetto, alcuna produzione di tessuti parenchimatici lungo la superfice libera. E ciò tanto più quanto più profonda è stata l'incisione provocata. Tali zone necrotiche sono ben visibili nella tav. I; nella fig. 3, in particolare, la zona necrosata appare più ampia rispetto a quella delle altre, in quanto la sezione è stata eseguita in prossimità dell'incisione superiore orizzontale.

Si è rilevato, inoltre, che il soggetto può, molto spesso, non produrre alcun tessuto di cicatrizzazione anche lungo quel tratto della superfice esterna della cerchia legnosa posto a diretto contatto della parte centrale dello scudo.

Per quanto riguarda la produzione di tessuti di cicatrizzazione da parte degli scudi, non si sono dimostrati capaci di moltiplicarsi nè gli elementi legnosi o corticali già differenziati, nè gli elementi midollari presenti alla base della gemma. I tessuti di cicatrizzazione risultano esclusivamente prodotti dalla superficie cambiale libera, ossia da quella più o meno sottile linea pressochè elissoidale posta fra le superfici tagliate della corteccia e della porzione legnosa degli scudi (vedi tav. I, figg. 1, 2 e 3).

b) Innesti di scudi «senza legno»

Le prime fasi del processo di cicatrizzazione presentano, in generale, le medesime caratteristiche di quelle già riscontrate per gli innesti di scudi con legno.

La produzione di tessuti parenchimatici di cicatrizzazione da parte del soggetto è uguale al caso precedente. Unica differenza è che lungo la superficie libera del corpo legnoso centrale non si è mai riscontrata una mancata formazione di parenchima nelle zone poste a diretto contatto con la parte centrale dello scudo.

Per quanto riguarda gli scudi, si è rilevato sempre una o più abbondante e più rapida produzione di tessuti di cicatrizzazione rispetto a quella degli scudi con legno. La superficie libera della zona generatrice cambiale, infatti, era considerevolmente maggiore che nei primi.

c) Innesti di scudi di sughero o di paraffina

Per quanto riguarda la produzione di tessuti di cicatrizzazione da parte del soggetto, si sono ripetute le medesime osservazioni effettuate

per gli innesti di scudi con legno. In generale, quindi, può ripetersi quanto già riferito per questi ultimi.

Ciò che soprattutto va sottolineato è che, così come nel caso degli scudi con legno, non si è avuta alcuna produzione di parenchina di cicatrizzazione lungo quel tratto della superficie esterna del corpo legnoso centrale del soggetto posto a diretto contatto dello scudo. Tale inconveniente, che non si è mai riscontrato nel caso degli scudi senza legno, si dimostra pertanto attribuibile ad un'azione negativa di natura meccanica esercitata dalla porzione legnosa degli scudi.

Struttura anatomica conseguente all'innesto

Le osservazioni sulla struttura anatomica degli innesti sono state condotte, come in precedenza riferito, su una serie di innesti eseguiti scalarmente, dalla primavera inoltrata fino all'inizio dell'autunno, su 7 gruppi di piante. Da ciascun gruppo sono stati successivamente prelevati alcuni innesti a distanza di 10-20-30 giorni, nonchè di 2-3 mesi ed oltre, dalla loro esecuzione.

Per ogni singolo innesto sono state eseguite delle serie di sezioni trasversali lungo tutta la zona di contatto fra scudo e soggetto.

Senza soffermarmi a ripetere la descrizione della struttura anatomica dei singoli innesti esaminati, ritengo opportuno limitarmi a riportare la descrizione di tale struttura così come può essere rilevata in generale, cercando di sottolinearne le principali caratteristiche.

a) Innesti eseguiti adottando scudi «con legno»

Nella tav. I ho riportato alcune sezioni di un medesimo innesto eseguito il 1° agosto e raccolto il 1° settembre. Nelle figg. 1, 2 e 3 di detta tavola sono riportate rispettivamente le sezioni effettuate sotto l'inserzione delle gemma, al livello ed appena al disopra di questa. La struttura anatomica di tale innesto è tipica e ad essa, pertanto, farò sempre riferimento in seguito.

Iniziando l'esame dalla corteccia del soggetto, si rileva che la parte terminale del due lembi sollevati nell'innesto non è rimasta vitale, ma è disseccata per un buon tratto. Nell'eseguire le sezioni, la stessa pressione della lama, determina quasi sempre il distacco di questa porzione estrema che, peraltro, è stata schematicamente riportata nella fig. 4. La rimanente parte della corteccia, invece, si presenta normale tanto nel tratto che rimane aderente all'alburno, quanto in quello che fu da esso separato.

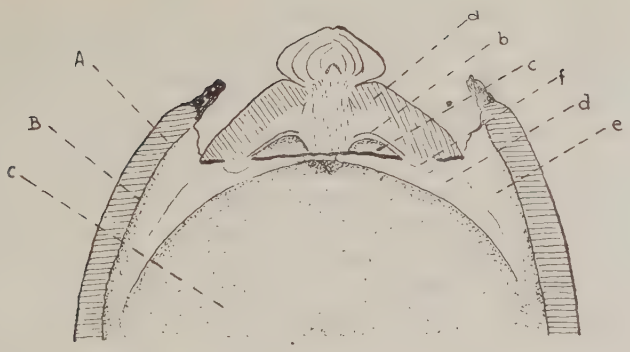


Fig. 4. – Schema rappresentativo della formazione dei tessuti di cicatrizzazione. *A*, *B* e *C* rispettivamente corteccia, cambio e legno del soggetto; *a*, *b* e *c* rispettivamente corteccia, cambio e legno dello scudo; *d* tessuto di cicatrizzazione prodotto dal corpo legnoso centrale del soggetto; *e* tessuto di cicatrizzazione prodotto dai lembi sollevati della corteccia; *f* tessuto di cicatrizzazione prodotto dallo scudo.

In ciascuna sezione è sempre chiaramente visibile la linea in cui, al momento dell'innesto, avvenne il distacco fra alburno e corteccia. Facendo riferimento ad essa, si nota, anzitutto, che la cerchia legnosa del soggetto, dove la corteccia non venne sollevata, ha subìto un ulteriore normale accrescimento. Dal punto in cui si arrestò il distacco della corteccia, lungo i lembi sollevati di questa, risulta essersi formata una zona di tessuto legnoso caratteristicamente restringentesi in spessore via via che si allontana dal corpo legnoso centrale del soggetto. Tale zona di tessuto legnoso, prodotta ad opera degli elementi cambiali rimasti aderenti alla corteccia, appare normalmente costituita, come se la intera cerchia legnosa non avesse subìto alcuna interruzione. Lo stesso lume dei vasi legnosi va sempre più diminuendo rispetto a quello dei vasi della rimanente parte legnosa del soggetto.

La saldatura fra questa banda legnosa di nuova formazione e il corpo legnoso centrale del soggetto risulta stabilita grazie ad un tessuto di tipo parenchimatico che ha riempito tutti gli spazi rimasti vuoti fra scudo e soggetto.

Circa l'origine di tale tessuto ho già riferito in precedenza. I suoi elementi risultano più o meno seriati soprattutto in due direzioni: verso il corpo legnoso centrale e verso la porzione di tessuto legnoso prodotta dall'ultima attività cambiale del soggetto (tav. II, fig. 4). La seriazione segue lo stesso ordine degli elementi legnosi cui sono a contatto.

Circa venti giorni dopo la sua formazione, è possibile rilevare in seno a tale tessuto parenchimatico alcuni gruppi di elementi che subi-

scono un caratteristico processo di differenziazione (vedi tav. II, fig. 3). Si tratta di gruppi di cellule che lignificano le loro membrane aumentando più o meno l'ampiezza del proprio lume. Precisamente, in sezione trasversale, ciascuno di questi gruppi appare costituito da uno o due, raramente più, elementi centrali a lume ampio ed a pareti lignificate; attorno a questi elementi ve ne sono altri a pareti pure lignificate, ma con una minore ampiezza del lume. Le cellule parenchimatiche poste tutt'intorno a ciascuno dei suddetti gruppi risultano notevolmente schiacciate in senso tangenziale rispetto ai gruppi stessi, evidentemente per l'azione comprimente esercitata dal dilatarsi degli elementi centrali.

Mediante l'esame di serie continue di sezione trasversali, ho potuto stabilire che spesso ciascuno dei suddetti gruppi risulta, nel complesso, quasi isodiametrico. Inoltre, detti gruppi non mostrano alcuna connessione tra loro, ma appaiono invece come « noduli di lignificazione » del tutto isolati.

Per quanto riguarda i tessuti prodotti dallo scudo, lungo la linea corrispodente alla zona cambiale libera di questo, bisogna rilevare che essi sono rappresentati da una proliferazione di tessuti prodotti dal cambio rispettivamente verso l'esterno e verso l'interno. In questa zona pare successivamente estroflettersi lo stesso cambio per cui si viene a costituire, in corrispondenza di questo, un fila di cellule con caratteristiche cambiali. Tale fila di cellule si allaccia lateralmente ad un cambiforme che si costituisce sui tessuti parenchimatici prodotti dal soggetto, in corrispondenza della superficie tagliata della corteccia dello scudo. Più o meno contemporaneamente si viene a costituire un nuovo cambiforme anche in continuazione della zona cambiale del soggetto, nel punto estremo della parte vitale dei lembi della corteccia. La formazione di tale cambiforme si estende rapidamente lungo la superficie esterna dei tessuti parenchimatici di cicatrizzazione, fino ad incontrare ed a saldarsi con la suddetta nuova zona generatrice cambiale proveniente dallo scudo. Una volta avvenuta questa saldatura può dirsi senz'altro stabilita la definitiva unione dei due bionti. Infatti, l'attività della nuova zona cambiale così formatasi, contemporaneamente a quella del cambio del soggetto e dello scudo, determina, in seguito, la formazione di un'unica cerchia legnosa per i due bionti nel punto d'innesto.

b) Innesti eseguiti adottando scudi « senza legno »

Per quanto riguarda la struttura anatomica di questi innesti, rispetto a quelli precedenti si sono rilevate solo alcune differenze relative al processo di cicatrizzazione e già precedentemente descritte. Nella tav. II, fig. 1

ho riportato una sezione trasversale di un innesto con scudo senza legno eseguita sotto l'inserzione della gemma, circa allo stesso livello della sezione riprodotta nella tav. I, fig. 1. L'innesto era stato eseguito il 20 agosto e raccolto il 10 settembre. Come si può notare, l'assenza della porzione legnosa dello scudo ha notevolmente aumentato la superficie di contatto fra la zona cambiale di questo ed il soggetto. Da parte dello scudo, pertanto, si è avuta una maggiore produzione di tessuti di cicatrizzazione che, in più punti, si sono confusi con quelli prodotti dal soggetto. Le zone scure, in cui non si è avuta alcuna produzione di nuovi tessuti, corrispondono alle superfici tagliate della corteccia e del midollo centrale dello scudo nonchè alla zona necrotizzata per l'incisione del taglio a T sul soggetto.

Discussione dei risultati

L'esame della disposizione reciproca assunta dai diversi tessuti dei due bionti nell'innesto ad occhio del pesco, analogamente a quanto già osservato dal Mendel (1935) per gli agrumi, ha messo in evidenza che sul soggetto il distacco della corteccia dall'alburno avviene nell'ambito della zona cambiale, sebbene non in maniera sempre uniforme. Questa, pertanto, rimane in parte aderente ai lembi sollevati della corteccia ed in parte al corpo legnoso centrale del soggetto. La zona cambiale dello scudo combacia col soggetto solo per una sottile linea più o meno elissoidale, nel caso in cui ad esso venga lasciata la sottostante porzione legnosa in corrispondenza della gemma, o per una fascia elissoidale discretamente larga, nel caso in cui la suddetta porzione legnosa venga asportata.

Una volta eseguito l'innesto, la produzione dei tessuti di cicatrizzazione è operata essenzialmente dal soggetto mediante la formazione di un tessuto di tipo parenchimatico che viene a riempire tutti gli spazi rimasti vuoti fra scudo e soggetto. Più precisamente tale tessuto si forma sempre tanto lungo la superficie libera del corpo legnoso centrale, quanto lungo la superficie interna del tratto vitale dei lembi sollevati della corteccia. Esso è prodotto dall'attività degli elementi della zona cambiale ed a volte anche da elementi della cerchia legnosa non ancora completamente differenziati o, comunque, capaci di moltiplicarsi.

La pur debole produzione di tessuti di cicatrizzazione da parte dello scudo è limitata all'attività della superficie libera della sua zona cambiale. Pertanto, nel caso degli innesti con scudi « con legno » tale produzione è risultata sempre molto inferiore ed anche più ritardata rispetto a quella degli scudi « senza legno »; in questi ultimi, infatti, la maggior

parte della superficie libera di taglio, combaciante col soggetto, è rappresentata appunto da tessuto cambiale.

La porzione di tessuto legnoso degli scudi con legno tende a tenere lontana la zona cambiale libera dello scudo dal corpo centrale del soggetto, aumentando gli spazi vuoti creati con l'innesto, e ciò tanto più quanto maggiore è il suo spessore. Essa è destinata successivamente a necrotizzarsi, mentre al suo livello i due bionti restano sempre separati fra loro. Inoltre, anche sulla superfice libera del corpo legnoso centrale del soggetto non viene prodotto alcun tessuto di cicatrizzazione lungo quel tratto posto a diretto contatto del legno dello scudo, per l'azione meccanica da questo esercitata.

Innestando, invece, scudi senza legno si ha ugualmente una zona necrotica al disotto della gemma, ma essa è di gran lunga minore della precedente, essendo limitata ad una piccola zona solo in corrispondenza dei tessuti di collegamento della gemma e della foglia ascellare.

Parrebbe evidente, pertanto, la opportunità di eliminare detta porzione legnosa dallo scudo. In pratica, però, poichè tale operazione determinerebbe una eccessiva perdita di tempo e potrebbe, inoltre, facilmente danneggiare la gemma, pregiudicandone la stessa vitalità, si può ritenere sufficientemente utile limitare al minimo la suddetta porzione legnosa mediante opportuni accorgimenti nel prelevamento degli scudi. In ciò viene confermato quanto già è illustrato dalle esperienze del Mendel (1935).

Durante il processo di cicatrizzazione della ferita d'innesto si è potuto mettere in evidenza che gli elementi cambiali rimasti aderenti ai lembi sollevati della corteccia, lungo il tratto vitale di questa, producono inizialmente un tessuto di tipo parenchimatico mentre secondariamente essi producono un tessuto legnoso normale.

Più precisamente, la formazione del tessuto ad elementi legnosi normalmente differenziati inizia nella parte più vicina al corpo legnoso centrale del soggetto ed in seguito, gradatamente, prosegue nelle parti più distanti da questo. Tale particolare comportamento richiama quanto già acquisito in merito all'interpretazione dei fenomeni di differenziazione istologica del legno secondario (Messeri, 1949, 1950). È stato, infatti, ormai ripetutamente dimostrato come il legno già differenziato debba ritenersi l'organizzatore del legno che viene differenziandosi, mentre il cambio non avrebbe altra funzione se non quella di proliferare un tessuto incapace di autodifferenziarsi. In particolare è già stato dimostrato anche che, quando il cambio si distacca con la corteccia dall'alburno e viene quindi a perdere il suo contatto con il legno, esso seguita a moltiplicarsi e a dare libro secondario, ma non è più capace di diffe-

renziare legno secondario finchè non ristabilisce via via il contatto con gli elementi già differenziati del legno (Pacini, 1935). Tutto ciò risulterebbe quindi confermato nel processo di saldatura dell'innesto ad occhio del pesco durante il quale, lungo i lembi di corteccia sollevati dall'alburno, l'organizzazione degli elementi prodotti dal cambio in elementi legnosi risulta iniziare nella zona di normale continuità anatomica con la cerchia legnosa già differenziata, per procedere poi, gradualmente, alle zone da essa più lontane; e ciò appunto in quanto spetterebbe al legno già differenziato il potere organizzativo delle cellule generate dal cambio.

Per quanto riguarda il parenchima di cicatrizzazione prodotto dagli elementi cambiali rimasti aderenti al corpo legnoso centrale del soggetto, si è potuto rilevare che la moltiplicazione di detti elementi si arresta non appena risultano riempiti i vuoti creati con l'innesto. Più precisamente pare che detti elementi perdano immediatamente la loro facoltà di moltiplicarsi non appena si trovano ad essere compressi contro altri tessuti. Ciò si rileva sia nella zona in cui essi vengono a contatto con la porzione legnosa o con il tessuto di cicatrizzazione dello scudo, sia in quella in cui finiscono col combaciare al tessuto di tipo parenchimatico prodotto al disotto dei lembi della corteccia. Al contrario, nella zona in cui i suddetti elementi finiscono per combaciare con la superfice tagliata della corteccia dello scudo, essi risultano differenziarsi in un cambiforme allacciantesi alla zona generatrice cambiale dello scudo. Tutto ciò richiama quanto è già stato messo in evidenza circa l'importanza del cribro nell'organizzazione del cambio (Messeri, 1949, 1950). È stato dimostrato, infatti, che il cambio può formarsi, e successivamente conservare le sue caratteristiche iniziali, solo se posto a contatto del cribro. Viene confermato, inoltre, quanto già rilevato dalla Fanara (1938) su *Ricinus communis* circa alcuni casi sperimentali di mancata formazione di cambiforme da ferita riferibili a cause di natura meccanica. L'autore, infatti, aveva già dimostrato che, contrariamente a quanto in genere avviene in corrispondenza di una lesione, se si esercita una pressione sulle cellule più esterne dei tessuti lesi, queste, pur conservando il loro normale turgore, non si dividono e non viene formato, quindi, nessun cambiforme.

Nel caso dell'innesto « ad occhio » la specifica organizzazione del nuovo cambiforme permette con matematica precisione la sua saldatura colla zona cambiale dello scudo da una parte, mentre dall'altra esso si troverà ad allacciarsi col cambiforme formatosi più o meno contemporaneamente sui tessuti parenchimatici prodotti al disotto dei lembi della corteccia, ed a sua volta allacciato alla zona generatrice cambiale del soggetto. Si viene in tal modo a stabilire una continuità fra le zone

cambiali dello scudo e del soggetto. La contemporanea attività di tali zone cambiali, in seguito, produrrà una cerchia legnosa unica determinando, così, la definitiva saldatura dei due bionti.

Per quanto riguarda il tessuto di cicatrizzazione esso conserva sempre immutate le sue caratteristiche parenchimatiche. Solo circa venti giorni dopo la sua formazione, è stato rilevato nella massa di tale parenchima il differenziarsi di alcuni elementi di « tessuto di trasfusione ». La formazione di un analogo tessuto è già stato rilevato dal Pacini (1935) negli innesti « a becco di luccio » del gelso ed « a corona » dell'olivo. Successivamente esso è stato più particolareggiatamente descritto dalla Francini (1936). Il termine di « tessuto di trasfusione » è stato già adottato dai suddetti autori in quanto tale tessuto si presenta costituito da alcuni elementi che assumono caratteristiche simili a quelle delle trachee e del parenchima paratracheale del normale tessuto legnoso. Tali elementi, però, risultano riuniti in gruppi isolati fra loro che la Francini (1936) indicava, appunto, con il termine di « noduli di lignificazione ». Ciò che più conta mettere in evidenza è che a tale tessuto di trasfusione non può essere attribuita alcuna funzione di trasporto, ma, semmai, solo di accumulo dell'acqua. Ciascun nodulo di lignificazione, infatti, immerso nel parenchima di cicatrizzazione, è isolato dagli altri; essi non possono costituire, quindi, una via diretta di comunicazione fra i due bionti. Analogamente a quanto fu già rilevato dal Pacini (1935), devo quindi sottolineare che una connessione anatomica del corpo legnoso centrale del soggetto con quello dello scudo, attraverso la formazione tra questi di un normale xilema, come taluno suole ammettere per gli innesti in genere, « non è mai stata osservata »; nè, d'altra parte, tale connessione avrebbe alcuna ragione di esistere in quanto la porzione legnosa degli scudi si necrotizza sempre dopo breve tempo.

Conclusioni

Il distacco della corteccia dall'alburno, condizione indispensabile per la esecuzione dell'innesto « ad occhio », risulta avvenire per il pesco nell'ambito della zona cambiale, sebbene non in maniera sempre uniforme.

In seguito all'innesto, quindi, tanto sul corpo legnoso centrale del soggetto quanto sulla superficie interna dei lembi sollevati della corteccia, viene rapidamente prodotto un tessuto di cicatrizzazione, di tipo parenchimatico, ad opera degli elementi cambiali che vi rimasero aderenti.

Da parte dello scudo si ha solo una debole produzione di parenchima di cicatrizzazione, limitata all'attività della superfice libera della sua zona cambiale. Così, innestando scudi « con legno » tale produzione risulta

sempre inferiore, ed anche più ritardata, rispetto a quella degli scudi « senza legno ».

La porzione di tessuto legnoso degli scudi con legno tende, inoltre, a tenere lontana la zona cambiale libera degli scudi stessi dal corpo centrale del soggetto, aumentando gli spazi vuoti creati con l'innesto e ciò tanto più quanto maggiore è il suo spessore. Essa è destinata, in seguito, a necrotizzarsi e si comporta, in tal modo, lungo tutta la sua ampiezza, come elemento separatore interposto fra i due bionti.

Nel caso degli scudi senza legno, invece, si ha una piccola zona necrotica solo in corrispondenza dei tessuti di collegamento della gemma e della foglia ascellare.

In base alle suddette osservazioni parrebbe evidente l'opportunità di eliminare la porzione legnosa degli scudi. Poichè però tale operazione richiede più tempo e può facilmente danneggiare la gemma, pregiudicandone la stessa vitalità, si ritiene utile consigliare, in pratica, di limitare al minimo la suddetta porzione legnosa mediante opportuni accorgimenti nel prelevamento degli scudi.

L'incisione a T operata sulla corteccia del soggetto scende facilmente in profondità intaccando l'alburno. I tessuti legnosi così colpiti si necrotizzano rapidamente per una estensione tanto maggiore quanto più profonda sarà stata l'incisione; al loro livello non viene prodotto da parte del soggetto alcun tessuto di cicatrizzazione. Da ciò si deduce la necessità pratica di non esercitare una pressione troppo forte sulla lama nell'effettuare la suddetta incisione.

L'attività di quella parte della zona cambiale che rimane aderente ai lembi sollevati della corteccia produce, inizialmente, un tessuto di tipo parenchimatico ed in seguito un tessuto legnoso normale la cui differenziazione è da ritenersi indotta dal corpo legnoso centrale del soggetto. Da parte, invece, degli elementi cambiali rimasti aderenti all'alburno, la produzione di tessuti di cicatrizzazione si arresta non appena essi si trovano ad essere compressi contro altri tessuti, ossia non appena sono riempiti tutti gli spazi vuoti creati con l'innesto. Solo in quel tratto posto in corrispondenza della corteccia dello scudo, forse in seguito all'azione induttrice da questa esercitata, gli elementi più esterni del suddetto tessuto si differenziano in un cambiforme. Questo viene, quindi, ad allacciarsi, da una parte, alla zona cambiale dello scudo, e dall'altra, successivamente, alla zona cambiale del soggetto.

Si viene in tal modo a stabilire una continuità tra le zone cambiali dello scudo e del soggetto. Successivamente la contemporanea attività delle suddette zone cambiali dà origine ad un'unica cerchia legnosa e determina la completa, effettiva saldatura dei due bionti.

Il tessuto di cicatrizzazione conserva sempre le sue caratteristiche parenchimatiche. Nella massa di tale parenchima si differenziano solo alcuni gruppi di elementi che acquistano caratteristiche simili a quelle del tessuto conduttore del legno. Tali gruppi di elementi, però, non possono avere alcuna funzione di trasporto in quanto essi sono completamente isolati fra loro, immersi nella massa del tessuto di cicatrizzazione; ad essi può essere attribuita solo una funzione di accumulo e di riserva di acqua.

Una via diretta di trasporto fra i due bionti viene stabilita con la successiva formazione di una cerchia legnosa unica nel punto d'innesto. Non è mai stata osservata una connessione anatomica del corpo legnoso centrale del soggetto con quello dello scudo, attraverso la formazione tra questi di un normale xilema, come taluno ha creduto che avvenga nel processo di saldatura degli innesti in genere.

RIASSUNTO

L'A. riporta i risultati di una serie di ricerche condotte sul pesco allo scopo di determinare il normale processo istogenetico di saldatura degli innesti « ad occhio ». Individuati i tessuti posti reciprocamente a contatto con la tecnica di tale innesto, viene quindi descritto il processo di cicatrizzazione della ferita d'innesto confrontando i casi degli scudi « senza legno » e « con legno ». L'A. descrive, inoltre, e discute il graduale processo di saldatura dei due bionti fino alla definitiva costituzione del nuovo individuo bimembre.

SUMMARY

RESEARCHES ON THE HISTOGENETIC PROCESS IN BUD-UNION OF PEACH TREES

by Franco Scaramuzzi

The author reports the results of a series of researches carried out on peach trees in order to ascertain the normal histogenetic process in bud-union.

The tissues brought in contact with each other by this grafting method are individuated. The process of cicatrisation of the graft wound, caused by budding with shields, with or without wood is described.

The author describes and discusses the gradual joining process of stock and scion until the new bimembered individual is established.

BIBLIOGRAFIA

Breviglieri, N. Peschicoltura. Roma, Ed. R.E.D.A., 1950.

Fanara, M. G. Reazione da ferita del tessuto corticale e midollare di fusti giovani di *Ricinus communis*. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, 1938, n. s., vol. XLV, n. 1, pp. 64-67.

Francini, E. Sul valore del tessuto di trasfusione negli innesti di *Morus alba* L. *Nuovo Giorn. Bot. It.*, 1936, n. s., vol. XLIII, n. 1, pp. 228-237.

Manzoni, L. Anatomia dell'innesto inglese della vite. *Ann. della R. Staz. Sperim. di Vitic. ed Enolog. di Conegliano*, 1926, vol. II, pp. 35-93.

Marinucci, M. Innesto delle piante da frutto. Roma, Ed. R.E.D.A., 1944.

Mendel, K. The anatomy and histology of the bud union in *Citrus*. *The Palestine Journal of Botany and Hortic. Sci.*, Rehovot, 1935-36, Vol. I, No. 2, pp. 13-46.

Messeri, A. Alcuni dati più recenti sugli organizzatori vegetali. *Atti della Accad. Naz. dei Lincei*, 1949, vol. II, sez. III.

Messeri, A. Gli organizzatori nelle piante. *Nuovo Giorn. Bot. It.*, 1949, n. s., vol. LVI, nn. 1-2.

Pacini, A. Le basi istologiche ed istogenetiche della particolare tecnica d'innesto del gelso (*Morus alba* L.). *Nuovo Giorn. Bot. It.*, 1935, n. s., vol. XLII, n. 2.

Ricevuto il 25 settembre 1951.

PREPOSTO ALLA PUBBLICAZIONE : GIULIO TRINCHIERI

Finito di stampare il 15 aprile 1952

NORME PER I COLLABORATORI

1. – Sono accolti per la pubblicazione negli *Annali della Sperimentazione Agraria* unicamente i lavori originali, a carattere sperimentale, eseguiti negli Istituti di sperimentazione agraria dipendenti dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste o da questo sussidiati. I lavori, di norma, non debbono superare 32 pagine di stampa. Le tabelle, le fotografie e i disegni debbono essere ridotti allo stretto necessario.

2. – I lavori di cui si chiede la pubblicazione debbono essere inviati alla Redazione degli *Annali della Sperimentazione Agraria* (Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Direzione Generale della Produzione Agricola, Divisione III) redatti nella forma definitiva e dattilografati; saranno trasmessi alla Redazione suddetta insieme con una lettera di accompagnamento firmata dal direttore dell'Istituto da cui essi provengono. Gli originali non saranno restituiti agli autori.

3. – I nomi scientifici (latini) di piante e animali debbono essere scritti — eccezion fatta per la lettera iniziale dei nomi dei generi e di determinate specie — in lettere minuscole e sottolineati con una linea intera.

I nomi delle varietà (non latini) debbono essere scritti in lettere minuscole, non sottolineati, e fra virgolette.

I nomi degli autori citati nel testo, nonchè le parole o frasi su cui si desidera di richiamare l'attenzione del lettore, debbono essere sottolineati con una linea spezzata (– – – – – – – –).

Gli autori sono pregati di non sottolineare parole o frasi per nessun'altra ragione e di non scrivere intere parole o frasi in lettere maiuscole.

4. – Per i numeri decimali debbono essere adoperate virgole e mai punti, così nel testo come nelle tabelle.

5. – Per le unità di misura si farà sempre uso delle apposite abbreviazioni. Per es.:

m	= metro	γ	= milionesimo di grammo	cc	= centimetro cubico
dm	= decimetro	%	= per cento	h	= ora
cm	= centimetro	N	= normale	min	= minuto primo
mm	= millimetro	pH	= pH, Ph	sec	= minuto secondo
μ	= micron	cm^2	= centimetro quadrato	σ	= millesimo di secondo
mμ	= micromicron	mm^2	= millimetro quadrato	‰	= per mille
m^2	= metro quadrato	′	= minuto d'arco	0.N	= decimo normale
mol	= grammo molecola	″	= secondo d'arco	g–eq	= grammo equivalente
milmol	= grammo molecola 1000	l	= litro		

6. – Le formule chimiche debbono essere scritte con indici in basso. Es.: CO_2.

7. – Le chiamate nel testo di eventuali note messe a pie' di pagina debbono essere indicate per mezzo di asterischi.

8. – I grafici debbono essere tracciati con inchiostro di Cina su cartoncino bianco levigato ma non lucido.

9. – Le tabelle debbono essere scritte su fogli distinti da quelli del testo; separati da questo ultimo debbono essere anche le fotografie, i disegni e le relative didascalie.

10. – Ogni lavoro deve essere sempre accompagnato da un riassunto (in forma impersonale) del suo contenuto essenziale (scopo del lavoro, risultati ottenuti). Detto riassunto sarà pubblicato anche in lingua inglese.

11. – L'elenco bibliografico, compilato secondo l'ordine alfabetico dei cognomi degli autori citati e munito dei numeri progressivi di riferimento a quest'ultimi, deve trovarsi alla fine del lavoro.

I numeri di riferimento bibliografico, nel testo, debbono essere scritti tra parentesi, al livello del testo stesso.

I dati relativi a ogni citazione bibliografica saranno indicati nell'ordine seguente:

a) cognome (i) dell'autore e iniziale (i) del suo nome (o dei suoi nomi); *b*) titolo del lavoro citato; *c*) titolo del periodico in cui il lavoro è inserito; *d*) luogo di stampa del periodico; *e*) data di pubblicazione (anno o mese) del periodico; *f*) numero dell'annata o del volume, del tomo o del fascicolo del periodico; *g*) numero delle pagine (prima e ultima) del lavoro citato; *h*) numero delle figure o tavole (nel testo o fuori testo); *i*) materiale bibliografico elencato alla fine del lavoro, ove questo materiale presenti uno speciale interesse per il lettore; *j*) nelle citazioni bibliografiche di opere non periodiche, intercalare, tra il luogo e la data di pubblicazione, il nome dell'editore o dell'impresa editoriale e far seguire il numero del volume o tomo cui ci si riferisce, nonchè quello delle pagine, delle figure, ecc.

Gli *Annali della Sperimentazione Agraria* (nuova serie) sono in vendita presso la
LIBRERIA DELLO STATO
Piazza Giuseppe Verdi, ROMA
Prezzo di ogni numero: L. 400 (per l'estero il doppio)